

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

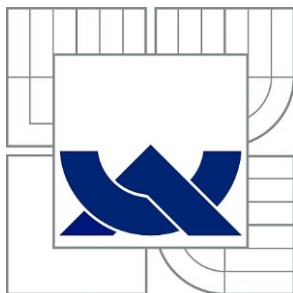
VYUŽITÍ BIOMATERIÁLŮ PRO OPTOELEKTRONICKÉ APLIKACE V  
POLOVODIČOVÉ TECHNICE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE  
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

TOMÁŠ ČUBOŇ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

# VYUŽITÍ BIOMATERIÁLŮ PRO OPTOELEKTRONICKÉ APLIKACE V POLOVODIČOVÉ TECHNICE

USE OF BIOMATERIALS FOR OPTOELECTRONIC APPLICATIONS IN SEMICONDUCTOR  
TECHNOLOGY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE  
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

TOMÁŠ ČUBOŇ

AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

prof. Ing. OLDŘICH ZMEŠKAL, CSc.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	<b>FCH-BAK0925/2014</b>	Akademický rok: <b>2014/2015</b>
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	<b>Tomáš Čuboň</b>	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Chemie pro medicínské aplikace (2808R031)	
Vedoucí práce:	<b>prof. Ing. Oldřich Zmeškal, CSc.</b>	
Konzultanti:		

### Název bakalářské práce:

Využití biomateriálů pro optoelektronické aplikace v polovodičové technice

### Zadání bakalářské práce:

1. Provedte rešerši na téma měření homogenity, tloušťky a indexu lomu tenkých vrstev biomateriálů. Popište základní optické parametry pro popis jejich vlastností
2. Pomocí elipsometrie, UV-VIS a profilometrie charakterizujte strukturu povrchu a objemu tenkých vrstev vybraných biomateriálů
3. Korelujte výsledky získané použitými metodami
4. Výsledky zpracujte do bakalářské práce

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22. 5. 2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Tomáš Čuboň  
Student(ka)

-----  
prof. Ing. Oldřich Zmeškal, CSc.  
Vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30. 1. 2015

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Tato práce se zabývá měřením optických vlastností tenkých vrstev biomateriálů, které by mohly najít potenciální využití v optoelektronice a polovodičové technice. Jako zástupce biomateriálů, za účelem jejich studia, byly vybrány DNA a BSA. Teoretická část práce měla za cíl popsat způsoby příprav tenkých vrstev a dále částečně charakterizovat základní pojmy a vlastnosti některých biomateriálů. V praktické části byly popsány přípravy tenkých vrstev metodou rotačního nanášení a následného měření jejich optických vlastností. Vybrané materiály byly studovány optickou mikroskopií, UV-VIS spektrofotometrií a spektroskopickou elipsometrií. Tloušťky nanesených vrstev se měřily mechanickou profilometrií. V posledním bloku této práce byl kladen důraz na diskuzi a vyhodnocení získaných výsledků.

## **ABSTRACT**

The bachelor's thesis is aimed to measurement optical properties of thin layer films of biomaterials which could be used in optoelectronics and semiconductor technology. DNA and BSA were chosen in order to represent such extensive group of biomaterials. The theoretical part describes the way of preparation of thin layer. It also provides some information about basic phenomena and biomaterials. The practical part is focused on the description of preparation of thin layer film using spin-coating method. The chosen materials were studied by optical microscopy, UV-VIS spectrophotometry and spectroscopic ellipsometry. The thickness of prepared samples was measured by mechanic profilometry. In the last section of the bachelor's thesis, there is discussion and evaluation of results.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Tenké vrstvy, UV-VIS spektrofotometrie, optická mikroskopie, spektroskopická elipsometrie, DNA, BSA.

## **KEYWORDS**

Thin layer films, UV-VIS spectrophotometry, optical microscopy, spectroscopic ellipsometry, DNA, BSA.

ČUBOŇ, T. *Využití biomateriálů pro optoelektronické aplikace v polovodičové technice*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 38 s. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Oldřich Zmeškal, CSc.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### **Poděkování:**

*Děkuji zejména vedoucímu bakalářské práce prof. Ing. Oldřichu Zmeškalovi, CSc. za ochotu při řešení problémů vzniklých při sestavování této práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Janu Pospíšilovi a Ing. Veronice Schmiedové za vstřícné poskytování odborných rad, především v praktické části této bakalářské práce.*

## Obsah

Obsah.....	5
1 ÚVOD.....	6
2 TEORETICKÁ ČÁST .....	7
2.1 Základní pojmy .....	7
3 MATERIÁLY PRO OPTOELEKTRONICKÉ APLIKACE .....	13
3.1 Biomateriály na bázi kvartérních amoniových solí .....	13
3.2 Bakteriorhodopsin – BR.....	15
3.3 Deriváty aminokyselin využívané jako polovodiče .....	15
3.4 Polydopamin – PDA.....	16
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	17
4.1 Studované biomateriály.....	17
5 METODY PŘÍPRAVY A URČENÍ VLASTNOSTÍ TENKÝCH VRSTEV .....	20
5.1 Metoda rotačního nanášení.....	20
5.2 Optická mikroskopie .....	20
5.3 UV-VIS spektrofotometrie .....	22
5.4 Profilometrie.....	25
5.5 Spektroskopická elipsometrie .....	26
6 DISKUZE EXPERIMENTÁLNÍCH VÝSLEDKŮ .....	29
6.1 DNA .....	29
6.2 BSA .....	33
7 ZÁVĚR.....	35
8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	36

# 1 ÚVOD

Biomateriály přitahují pozornost vědců již po mnoho let. S masivním rozvojem plastových materiálů rostl i objem plastového odpadu a vznikaly problémy s jeho likvidací. Na rozdíl od plastů, tyto materiály takové problémy nemají. Jejich atraktivita spočívá především v tom, že mají právě takové vlastnosti, na které jsou v poslední době nejvíce kladeny požadavky. Biokompatibilita, biodegradabilita a poměrně snadná dostupnost jsou jejich základní atributy. V oborech jakými jsou například medicína či ekologie našly biomateriály své uplatnění již dříve. Tyto materiály nacházejí také potenciální využití při výzkumu a vývoji nových polovodičových a optoelektronických součástek. Při manipulaci s nimi je však nutno dbát zvýšené opatrnosti a preciznosti, aby nedošlo k poškození těchto často na venek velmi citlivých materiálů. S širším rozvojem barevných televizorů, či jiných zobrazovacích zařízení je od těchto přístrojů vyžadována nízká spotřeba energie, vysoká kvalita obrazu a v neposlední řadě i co nejnižší cena. Některé synteticky nebo z přírody získané biopolymery a biomateriály splňují výše uvedené nároky. Práce je zaměřena na vyhledání a bližší specifikaci některých z nich.

Práce je rozdělena do třech základních bloků, přičemž první z nich se zabývá základními pojmy a výčtem příkladů biomateriálů, které nacházejí potenciální využití v optoelektronických aplikacích.

Další část práce je zaměřena na popis přípravy tenkých vrstev již předem vybraných biomateriálů. V této části se také práce zaměřuje na měření absorpčních spekter připravených tenkých vrstev. Jsou zde i mimo jiné popsány vlastnosti a struktury DNA a BSA, jakožto studovaných zástupců.

Poslední část má za cíl vyhodnocení získaných výsledků a jejich následnou diskuzi.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Základní pojmy

#### 2.1.1 Biomateriály

Za biomateriál [1] v dnešním pojetí považujeme každou látku, či pouze povrch interagující s biologickým systémem. Tyto materiály mohou být získány nejen přímo z přírody, ale i efektivně syntetizovány laboratorně. Jejich vlastnosti lze hojně využít v širokém spektru vědních oborů, jako například v tkáňovém inženýrství, klinické biomedicině nebo právě pro optoelektronické aplikace v polovodičové technice. DNA, RNA, biopolymery na bázi sacharidů, lipidů, nukleotidů, aminokyselin či proteinů jsou jen zlomkem konkrétních běžně, nicméně široce, užívaných biopolymerů.

#### 2.1.2 Tenké vrstvy a způsoby jejich příprav

Pojem tenká vrstva [2] je definován jako souvislý tenký film tloušťky několika nanometrů až mikrometrů. Tloušťka je obvykle podobná vlnové délce světla [3], nejčastěji je rovna  $1/4$  vlnové délky pracovního osvětlení, a to z důvodu interference na bílém světle. Materiál tenké vrstvy může být kovový, dielektrický, kombinací obou variant, či jakýkoli biopolymer nebo biomateriál. Tenké vrstvy mohou vykazovat magnetické vlastnosti. Tato vrstva je pak záměrně nanášena na materiál, za účelem změny povrchových vlastností, které obvykle vedou ke změnám ve vlastnostech celého materiálu. Příkladem mohou být tenké stříbrné filmy nanášené na textil, aby působily antibakteriálně. Na poli mechaniky lze najít tenké vrstvy například u řezných nástrojů. V elektronice a v elektrotechnice se tenké vrstvy využívají v technologii *light emitting diodes* (LED) nebo *organic light emitting diodes* (OLED). Využití tenkých vrstev nacházíme také v optice při úpravě povrchových vlastností optických zobrazovacích prvků, např. čoček.

#### ***Klasické naprašování***

Jedná se o způsob nanášení tenkých vrstev, který využívá vysokých napětí (tisíce voltů) a nízkých tlaků (jednotky pascalů), z čehož vyplývá, že celá aparatura musí být umístěna do vakuové komory tak, aby nedocházelo k ztrátě tlaku. Zde je dodáván inertní plyn [4], nejčastěji argon. Současně je do vakuové komory přiváděn také doutnavý výboj. Tenká vrstva vzniká interakcí kladných iontů a záporně nabitého materiálu. Záporné elektrony jsou následně pohlceny uzemněnou vakuovou komorou. Po dopadu na povrch materiálu se pohybující ionty začleňují do povrchu materiálu, čímž vzniká tenká vrstva. Vlivem rotace substrátu dochází k tvorbě tenké vrstvy, která je více homogenní.



### ***Magnetronové naprašování***

Způsob nanášení tenkých vrstev touto metodou [4] je založen na principu užívaného v klasickém naprašování s tím rozdílem, že je k této aparatuře přidán magnet, čímž se dotváří definované elektromagnetické pole. Magnet může být permanentní nebo elektromagnet. Přítomností magnetu dojde k vytvoření magnetické Lorentzovy síly  $F$ , která je rovna

$$F = Q(E + v \times B), \quad (1)$$

kde  $Q$  je velikost náboje,  $E$  je intenzita elektrického pole,  $v$  je vektor rychlosti a  $B$  je vektor magnetické indukce. Tato síla zároveň zvýší dobu setrvání elektronů u výboje tím, že nutí elektrony do pohybu po siločarách tvaru šroubovice. Siločáry jsou tvořeny Lorentzovou silou, a tak prodlužují dráhu letu elektronů. Zároveň se zvýší pravděpodobnost ionizace pracovního plynu, díky které je možno snížit tlak na desetiny pascalu a napětí na stovky voltů. Snížení tlaku vede k čistějším tenkým vrstvám a úsporám energie. Spolu s inertním plynem je možno dodávat také pracovní plyn např. dusík či kyslík, čímž mohou vznikat tenké vrstvy nitridů, oxidů atd. Měli byt výsledná tenká vrstva vytvořena na nevodivém materiálu, je nutno použít střídavý vysokofrekvenční signál. Touto metodou lze připravit obecně menší tloušťky tenkých vrstev než u metody CVD.

### ***Chemická depozice z plynné fáze – CVD***

CVD je varianta tvorby tenkých vrstev [5] z plynné fáze. Plyn je vlivem vysoké teploty rozložen a disociuje na molekuly, které následně reagují se substrátem, což vede k tvorbě tenké vrstvy. Chceme-li snížit teplotu, která se pohybuje kolem 1 000 °C, přivádíme ke vzorku zdroj stejnosměrného nebo vysokofrekvenčního napětí. Takto vzniklé tenké vrstvy jsou obvykle silnější než vrstvy připravené jinými metodami. Výhodou CVD je, že díky vysoké adhezi může být materiál, na který se vrstva nanáší, složitě tvarovaný. Díky vysokým teplotám a době, po kterou probíhá CVD, je tato metoda energeticky i časově velmi náročná ve srovnání například s metodou rotačního nanášení (spin-coating).

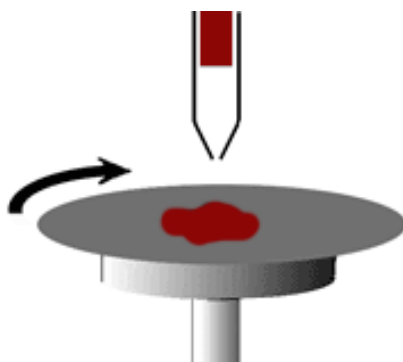
### ***Digitální (elektrografický) tisk***

Tento způsob tisku se uplatňuje v laserových tiskárnách. Princip digitálního tisku [6] spočívá v osvětlování fotovodivého povrchu. Koronou se na tomto povrchu vytvoří rovnoměrný náboj velikosti několika set voltů. Poté přichází na scénu fáze osvětlování, a sice laserovým paprskem. Samotný nátisk potom probíhá za přístupu malých částecek toneru, (5 – 7)  $\mu\text{m}$ . Teplota okolo 140 °C způsobuje zadržení toneru na papíru či plastu. Přebytný toner se chytá na magnetickém

válci či kartáči. V neosvětlených místech fotovodivého povrchu fotoválce se toner téměř nepřichytí, avšak na místech osvětlených se přichytí množství úměrné zbylému náboji.

### ***Rotační nanášení – spin-coating***

Jednoduchá a efektivní metoda rotačního [7] je hojně používána při nanášení tenkých vrstev. Princip spočívá v nanesení definovaného objemu na substrát a následného využití odstředivých sil vzniklých při rotaci substrátu, který je přichycený k rotačnímu disku, což vede k vytvoření tenké vrstvy. Schéma využití odstředivé síly při rotačním nanášení je zobrazeno na Obr. 1. Značnou výhodou této metody je kromě její jednoduchosti také široká škála možností při nastavení. Na spin-coateru lze nastavit dva rychlostní režimy otáčení. První režim otáčení zajišťuje rozestření vzorku po substrátu, tato rychlost bývá v rozmezí 0 – 1 000 rpm (otáčky/minutu). Druhý režim otáčení může být v rozmezí 1 000 – 5 000 rpm, a má za cíl samotnou přípravu tenké vrstvy. Dále je možno k oběma z těchto funkcí nastavit příslušnou dobu rotace. Tloušťku vrstvy lze ovlivnit nejen velikostí frekvence otáčení nebo dobou, ale i způsobem a množstvím nanášeného vzorku. Vzorek je možno nanášet na substrát dvěma způsoby, a to staticky a dynamicky. První způsob spočívá v nanesení definovaného množství vzorku na substrát a následného roztočení disku. Při použití dynamické metody nanášení tenkých vrstev se nejprve spin-coater uvede do chodu a následně je vzorek aplikován na substrát. Pro různé vzorky je nutno vybrat vhodné metody nanášení. Touto metodou lze nanášet jak organické, tak anorganické vzorky.



*Obr. 1 Schéma nanášení tenkých vrstev rotační metodou [7]*

Z výše uvedených metod přípravy tenkých vrstev je však pro biomateriály použitelný pouze rotační nanášení a elektrografický tisk. Další možnou alternativou k těmto dvěma metodám je prosté vysušení rozpouštědla, tedy příprava tenkých vrstev sušením. Ostatní zde uvedené metody jsou využívány pro více odolné materiály ať už anorganické, či organické. Vzhledem k citlivé povaze biomateriálů by mohlo docházet k jejich tepelné degradaci a následné destrukci při špatné volbě metody přípravy tenkých vrstev. Z těchto důvodů jsou metody jako klasické či

magnetronového naprašování pro přípravu tenkých vrstev biomateriálů nevhodné. Drastické podmínky těchto metod by mohly snadno a nevratně poškodit vazby biomateriálů, což by vedlo k znehodnocení vzorků.

### ***Vlastnosti tenkých vrstev***

Vlastnosti tenkých vrstev ovlivňují výsledné vlastnosti celého vzorku, a proto je nutná jejich charakterizace. Popis základních vlastností tenkých vrstev je možno rozdělit do tří kategorií, a to na mechanické, optické, elektrické.

- ***Mechanické vlastnosti***

Charakterizace mechanických vlastností tenkých vrstev je důležitá z důvodu působení mechanických sil na substrát se vzorkem. Nanesený vzorek musí být dostatečně pevný a tvrdý tak, aby při manipulaci nedošlo k poškození nanesené tenké vrstvy. Vnitřní pnutí v tenké vrstvě musí být co možná nejmenší, naopak přilnavost k povrchu substrátu, na kterém se tenká vrstva nachází, by měla být dostatečně velká. Homogenita tenkých vrstev je sledována za tím účelem, aby měl vzorek stejné vlastnosti po celé nanesené tenké vrstvě. Strukturu povrchu lze studovat optickým mikroskopem nebo pomocí elipsometrických metod.

- ***Optické vlastnosti***

Jedny z nejběžnějších optických vlastností tenkých vrstev jsou absorpce a index lomu. Označíme-li si rychlost světla ve vakuu jako  $c$  a rychlost světla v daném prostředí  $v$ , pak poměr těchto čísel  $N$  je index lomu dané látky  $N = c/v$ . V širším pojetí je index lomu definován reálnou a imaginární částí takto:

$$N = n + i\kappa, \quad (2)$$

kde  $N$  je komplexní index lomu,  $n$  je reálná část indexu lomu, která odpovídá za rychlost světla v daném prostředí, a  $\kappa$  je index absorpce, který je zodpovědný za míru absorpce daným materiálem. Taucova rovnice popisující hranu optické absorpce tenkých vrstev [8] je definována vztahem:

$$(\alpha h\nu) = A(h\nu - E_g)^r, \quad (3)$$

kde  $\alpha$  je absorpční koeficient,  $h$  je Planckova konstanta,  $\nu$  je frekvence,  $A$  je konstanta nezávislá na teplotě,  $E_g$  je šířka zakázaného pásu,  $r$  je konstanta spojená s typem optického přechodu nabývající hodnot  $r = 1/2, 2, 3/2, 3$ . Pro absorpční koeficient platí vztah:

$$\alpha = \frac{4\pi\kappa}{\lambda}, \quad (4)$$

kde  $\alpha$  je absorpční koeficient,  $\kappa$  je index absorpce a  $\lambda$  je vlnová délka.

Nejnižší index lomu má vakuum  $N = 1$  a jeden z nejvyšších indexů lomu má diamant  $N \cong 2,4$ . Index lomu závisí také na typu chemického materiálu – s rostoucím protonovým číslem obvykle roste [3]. Sloučeniny s iontovými vazbami mají většinou nižší index lomu než sloučeniny s kovovými vazbami. Dalšími vlastnostmi ovlivňující index lomu jsou velikosti částic na atomární úrovni, absorpce či prostorové uspořádání například pro  $\text{TiO}_2$  platí různé indexy lomu, a to i při stejné vlnové délce  $\lambda = 550 \text{ nm}$ . Důvodem jsou 3 různé alotropické modifikace – anatas, rutil a brookit.

Rovnice popisující index lomu tenkých vrstev [14]:

$$N = \left( \frac{1+R}{1-R} \right) + \sqrt{\frac{4R}{(1-R)^2} - \kappa^2}, \quad (5)$$

kde  $R$  je reflektance a  $\kappa$  je index absorpce.

Absorbance je optická vlastnost charakterizující míru úbytku elektromagnetického záření po projití vzorkem, resp. míru jeho úbytku. Tento úbytek je popisován Lambert-Beerovým zákonem:

$$\frac{\phi}{\phi_0} = 10^{-\varepsilon l c}, \quad (6)$$

který v logaritmickém tvaru přechází na tvar, který již má definovanou absorbanci:

$$A = -\log \tau = \log \frac{\phi}{\phi_0} = \varepsilon l c, \quad (7)$$

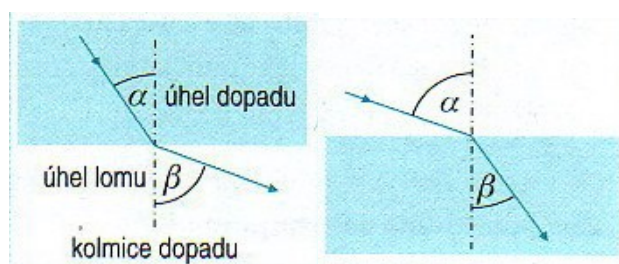
kde  $\phi$  je intenzita prošlého záření,  $\phi_0$  je intenzita dopadajícího záření,  $\varepsilon$  je molární extinkční koeficient,  $l$  je délka optické dráhy,  $c$  je koncentrace,  $A$  je absorbance a  $\tau$  je transmitance.

Pro odraz světla (reflexe) platí zákon odrazu  $\alpha' = \alpha$ . Dopadá-li paprsek elektromagnetického záření na rovinu dopadu pod úhlem  $\alpha$ , následně se odráží pod stejným úhlem  $\alpha'$ . Totální odraz nastává, při průchodu elektromagnetického záření z opticky hustšího do opticky řidšího prostředí pod úhlem lomu  $\alpha_m = 90^\circ$ . Tento úhel  $\alpha_m$  se pak nazývá mezní.

Lom světla (refrakce) nastává při dopadu elektromagnetického záření na rovinu dopadu pod úhlem  $\alpha$  a láme se se pod úhlem  $\beta$ . Pro siny těchto úhlů platí Snellův zákon ve tvaru:

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{N_2}{N_1}, \quad (8)$$

kde  $v_1, v_2$  jsou rychlosti světla v daném prostředí a  $N_1, N_2$  jsou indexy lomu v daném prostředí, jímž se světlo šíří. Přechází-li paprsek z opticky hustšího do opticky řidšího prostředí, jedná se o lom světla od kolmice  $\alpha < \beta$  Obr. 2, vlevo, zatímco platí-li  $\beta < \alpha$  nastává lom ke kolmici Obr. 2, vpravo.



Obr. 2 Odraž světla od kolmice a ke kolmici [9]

### 2.1.3 Polovodiče

Jedná se o elektronické součástky [10], které jsou obvykle vyrobeny z materiálů, jakými jsou například (Si, Ge, Se, As, Bi...) nebo z jejich slitin. V tomto případě hovoříme o anorganických polovodičích. Jestliže jako polovodič vystupuje biomateriál či jiná organická sloučenina, hovoříme o organických polovodičích. Přidání vhodných příměsí do těchto sloučenin se může pozitivně odrazit na zvýšení vodivosti těchto sloučenin. Například, máme-li polovodič z křemičité soli  $\text{Si}^{\text{IV}+}$ , následně substituujeme jeden tento iont fosforem v oxidačním stupni V, pak jeden elektron nadbývá a je schopen migrovat, tudíž vést elektrický proud. Naopak vezmeme-li stejnou křemičitou sůl a jeden atom nahradíme prvkem v oxidačním stupni III ( $\text{B}^{\text{III}+}$ ), jeden elektron bude chybět a vzniká díra. Takto vzniklé polovodiče se dělí do dvou skupin – polovodiče typu P a N.

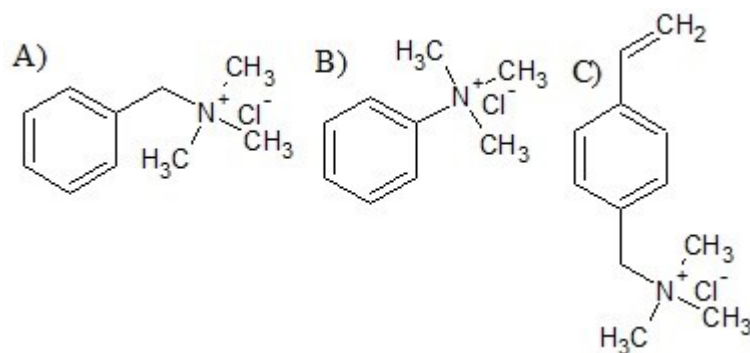
#### **Princip fotopolovodičů**

Princip spočívá v generování páru elektron-díra na základě osvětlení daného fotopolovodiče proudem fotonů o konkrétní vlnové délce. Energií nesoucí foton po dopadu na materiál excituje elektrony, které jsou v důsledku excitace a absorpce fotonu schopny v elektrickém poli volně migrovat. Při deexcitaci může dojít k zániku elektronu, díky kterému dochází k uvolnění energie a emisi světla určité vlnové délky.

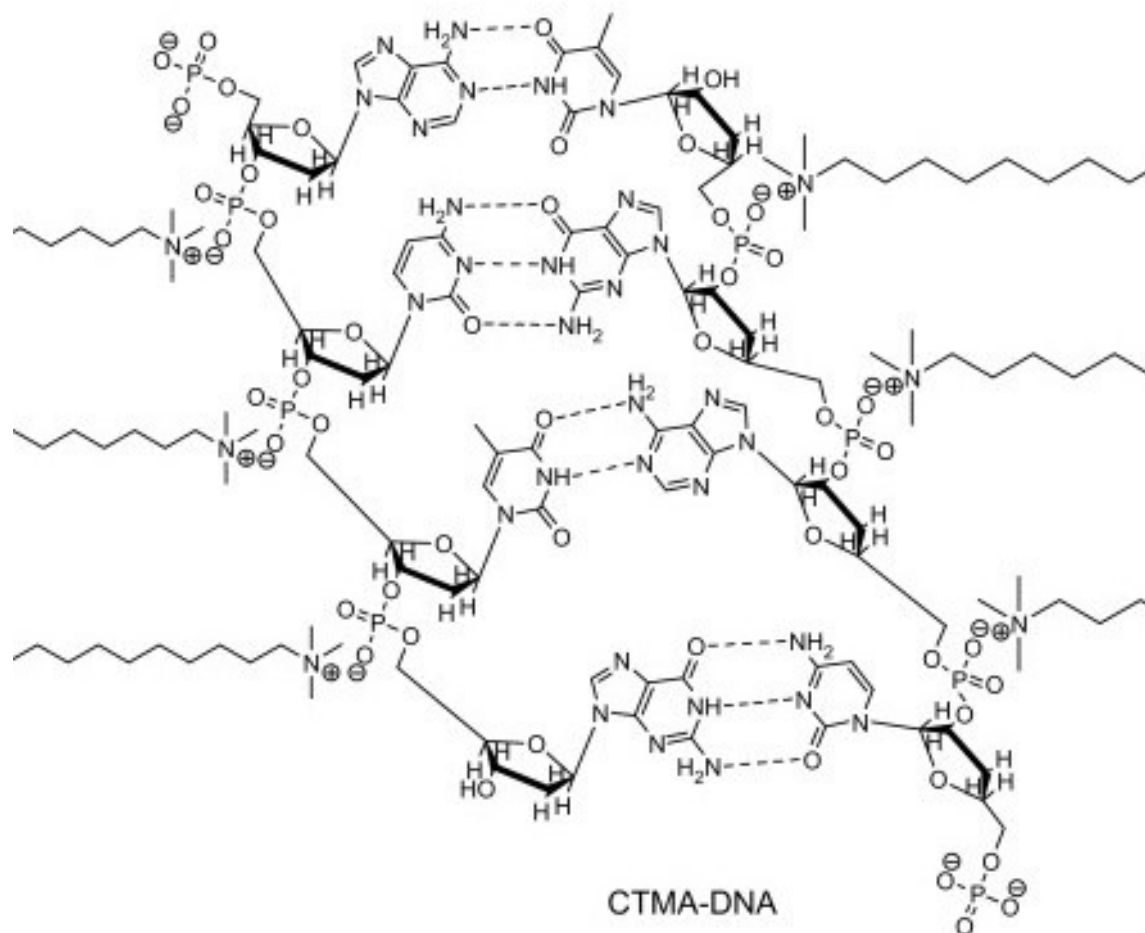
### 3 MATERIÁLY PRO OPTOELEKTRONICKÉ APLIKACE

#### 3.1 Biomateriály na bázi kvartérních amoniových solí

Polymerní deriváty DNA a samotná deoxyribonukleová kyselina [11] vykazují vynikající materiálové, optické a transmisní vlastnosti. Dvoušroubovicová struktura DNA umožňuje migraci elektronů [12]. Zpolymerizovaná, chemicky upravená DNA, získaná z pohlavních orgánů lososích samců, je široce využívána jakožto kvalitní zdroj pro optoelektronická měření tenkých vrstev. Samotná DNA je rozpustná pouze ve vodě [13], za účelem její rozpustnosti v organických rozpouštědlech může být převedena na komplex CTMA-DNA, který lze využít ke studiu optických a fotofyzikálních vlastností DNA v pevné fázi – v tenké vrstvě. Za chemickou úpravu lososí DNA jsou zodpovědné povrchově aktivní látky (PAL), s nimiž vytváří komplexy. Takto vzniklé komplexy vykazují vyšší kvalitu tenkých vrstev a jejich optických vlastností. Nejčastěji jsou těmito komplexy kvartérní amoniové soli, rozpustné v polárních organických rozpouštědlech jako je *n*-butanol. Jmenovitě se jedná o: benzyl-trimethylamonium chlorid (BTMA), fenyltrimethylamonim chlorid (PTMA), vinylbenzyltrimethylamonium chlorid (VBTMA) Obr. 3 nebo cetyltrimethylamonim chlorid (CTMA) Obr. 4. Pro zlepšení optických a vodivostních vlastností tenkých vrstev se do těchto komplexů může implantovat vysokovodivostní polymer například Clevios P. Samotný CTMA však není opticky aktivní.



Obr. 3 A)benzyltrimethylamonim chlorid (BTMA) B)fenyltrimethylamonium chlorid (PTMA)  
C)vinylbenzyltrimethy amonium chlorid (VBTA)



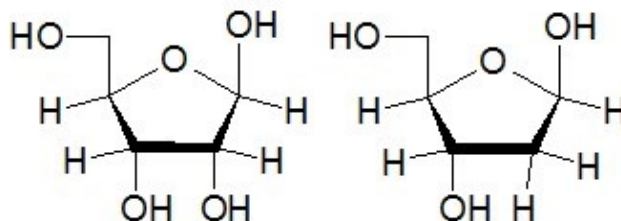
Obr. 4 Model struktury komplexu CTMA-DNA [14]

### ***Vlastnosti komplexu CTMA-DNA***

Díky fosfátovým skupinám v DNA je celkový náboj tohoto komplexu záporný. Negativní náboj zároveň předurčuje tento komplex k možným chemickým reakcím. CTMA-DNA [14] podléhá nevratným redoxním reakcím. Vzdušný kyslík oxiduje guaninovou bázi v komplexu CTMA-DNA, což má za následek negativní posun oxidačního potenciálu. V alkalickém prostředí dojde k deprotonizaci guaninových skupin v komplexu CTMA-DNA. Tato sloučenina je citlivá na pH, v kyselém prostředí k elektrochemické redoxní reakci nedochází.

Z optických vlastností tohoto komplexu jsou nejatraktivnější svítivost a emise záření, které jsou přibližně dvakrát větší než, u materiálů používaných v technologiích LED a OLED [15]. I přes tyto výhody, musíme vzít v potaz, že DNA a jakékoliv komplexy DNA jsou polyelektrolyty a jejich dlouhé šroubovice podstupují konformační změny v elektrickém poli. Další nevýhodou je značná hydrofilita, což je pochopitelně v elektronice závažný nedostatek.

Z hlediska struktury se jedná o příklad typického komplexu. Každé vlákno DNA je složeno z jednoho ze čtyř nukleotidů – adenin, guanin, cytosin, thymin. Další součástí je zbytek kyseliny fosforečné – fosfát a cukr obvykle ribóza, nebo 2-deoxyribóza, který je možno vidět na Obr. 5.



Obr. 5 Grafické znázornění struktury ribózy (vlevo) a 2-deoxyribózy (vpravo)

### 3.2 Bakteriorhodopsin – BR

Jedná se o světlem řízenou protonovou pumpu [16], která se nachází v plazmatické membráně halobakterií *Halobacterium salinarum*. Je to fotosyntetizující protein, který využívají zástupci říše *archaea* k produkci adenosin trifosfátu (ATP) z adenosin difosfátu (ADP). Bakteriorhodopsin může být používán v optoelektronických aplikacích, protože má protonovou pumpu, která je schopna udělit materiálu elektrický náboj po působení elektromagnetického záření. Díky fotoelektronickým interakcím mezi bakteriorhodopsinem a materiálem je možné jeho uplatnění v optoelektronice. Tenká vrstva bakteriorhodopsinu [17] je schopná generovat napětí o velikosti až 300 mV po působení elektromagnetického záření.

### 3.3 Deriváty aminokyselin využívané jako polovodiče

Aminokyseliny jsou organické kyseliny, které mají ve své struktuře amino skupinu  $-NH_2$  a skupinu  $-COOH$ . Výsledný náboj aminokyseliny se odvíjí od pH, ve kterém se aminokyselina nachází. Tetrakynoquinodimethan (TCNQ) je slibná sloučenina využívána v polovodičové technice [18], a to nejen z důvodu biodegradability. Z hlediska klasifikace se jedná o typický organický akceptor, který se v přítomnosti donoru elektronů formuje na radikál  $TCNQ^{\cdot-}$ . TCNQ je v čistém složení polovodič, ale jeho vodivost je poměrně nízká. Radikálové komplexy  $TCNQ^{\cdot-}$  mají často větší konduktivitu.

#### 3.3.1 Komplex prolinu a TCNQ

$(Pro_2H^+)_2(TCNQ^{\cdot-})_2$  nebo  $(ProTCNQ)$  jsou tmavě modré krystaly. V pevném stavu mají konduktivitu  $2,5 \text{ mS.cm}^{-1}$ , což leží přesně v rozmezí, které je vhodné pro polovodiče, a sice toto rozpětí se pohybuje v intervalu  $(10^{-5} - 10^6) \text{ mS.cm}^{-1}$ . Rezistivita tohoto komplexu s klesající



teplotou roste. Lineární závislost měrného elektrického odporu na převrácené hodnotě termodynamické teploty vykazuje typickou závislost polovodičů.

### **3.4 Polydopamin – PDA**

Polydopamin je biopolymer, který je možno použít nejen v optoelektronice, ale i jako poměrně dobrý materiál k povrchové úpravě vzorků [19]. Co se týče struktury PDA, existují dvě teorie. Jedna z nich se přiklání ke struktuře, kde jsou základními prvky dihydroxyindoly, indoldiony a dopaminy. Tyto organické sloučeniny jsou k sobě vázány kovalentními vazbami. Druhá teorie pracuje s myšlenkou seskupování dopaminových jednotek do celku. PDA patří mezi širokou skupinu látek, vyskytujících se v živočišných buňkách – melaninech, do podskupiny eumelaninů. PDA, respektive melaniny obecně, slouží lidskému tělu jako fotoprotektivní látky a zabraňují tělu pohlcovat škodlivé záření. Z tohoto důvodu se hojně objevují v lidské kůži. Lze je také využít jako biomateriály v optoelektronice.

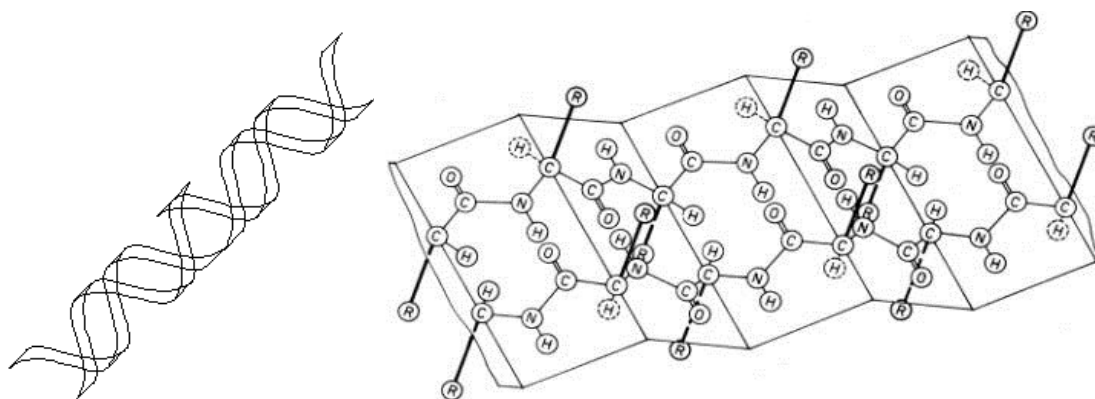
## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Studované biomateriály

#### 4.1.1 Bovine serum albumin – BSA

BSA, čili hovězí sérový albumin, patří do široké skupiny albuminů, což jsou globulární proteiny, které jsou ve vodě velmi dobře rozpustné. Získává se z krevní plazmy hovězího dobytka například frakčním srážením solemi. Jako každý jiný protein je i BSA tvořen čtyřmi základními strukturami a menšími podjednotkami.

- Primární struktura proteinů je reprezentována přímo pořadím  $\alpha$ -aminokyselin v polypeptidovém řetězci.
- Sekundární struktura proteinů představuje uspořádání pořadí  $\alpha$ -aminokyselin do prostoru, do přesně definovaných tvarů jakými jsou nejčastěji  $\alpha$ -helixy a  $\beta$ -skládané listy, které je možno vidět na Obr. 6. Za stabilitu sekundární struktury proteinů jsou zodpovědné H-můstky.



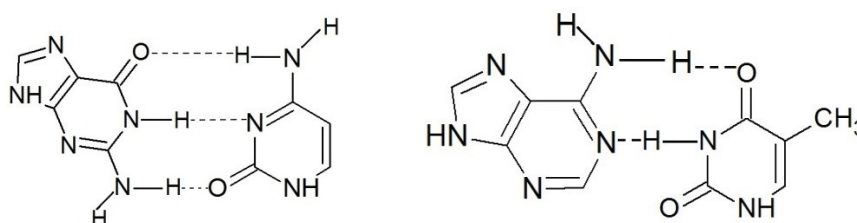
Obr. 6 Model  $\alpha$ -helixu a  $\beta$ -skládaného listu [20]

- Terciální struktura vzniká spojováním více prvků ze sekundárních struktur do jedné podjednotky vznikajícího proteinu. Jedná se o velmi složité prostorové uspořádání, jehož výsledný tvar závisí na typu interakce, její velikosti a počtu vazeb, které tuto prostorovou strukturu stabilizují. Terciální struktura proteinů může být stabilizována například H-můstky, elektrostatickými interakcemi, hydrofobními interakcemi a disulfidickými můstky.
- Kvartérní struktura proteinů je nejsložitější uspořádání. Z hlediska tvaru se jedná o uskupení více podjednotek terciální struktury do výsledného proteinu. Kvarterní struktura může být stabilizována všemi výše uvedenými druhy slabých nevazebných interakcí včetně Van der Waalsovými silami.

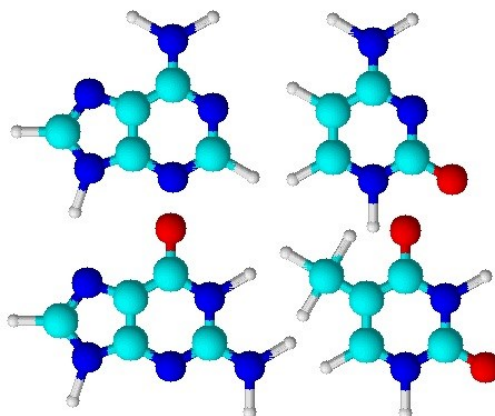
BSA je složen z 607  $\alpha$ -aminokyselin a jeho molekulová hmotnost je kolem 67 000 Da = 67 kDa.

#### 4.1.2 Deoxyribonucleic acid – DNA

Deoxyribonukleová kyselina [21] je základní informační jednotkou téměř všech organismů. Jedná se o biopolymer s vysokou molekulovou hmotností a se složitou, avšak velmi přesně definovanou strukturou, kterou tvoří dvě antiparalelní vlákna zapletená do pravotočivé dvoušroubovice, podobně jako na Obr. 6, vlevo. DNA je složena z nukleotidů, které jsou tvořeny monosacharidem (cukrem), dusíkatou bází a zbytkem kyseliny fosforečné – fosfátem. Nukleotid je orientován dovnitř dvoušroubovice. Na základě komplementarity bází se páruje guanin – G třemi vodíkovými můstky s cytosinem – C, viz Obr. 7 vlevo a adenin – A s thyminem – T dvěma vodíkovými můstky, viz Obr. 7 vpravo. 3D modely dusíkatých bází jsou na Obr. 8. Struktura dusíkatých bází si vyžaduje právě tento počet vodíkových můstků. Komplementarita zajišťuje také párování vždy jednoho purinového a jednoho pyrimidinového kruhu.



Obr. 7 Grafické znázornění párování bází vodíkovými můstky guaninu s cytosinem a tyminu s adeninem



Obr. 8 Prostorové znázornění dusíkatých bází DNA

Spolu s fosfodiesterovou vazbou mezi 5' a 3' uhlíky furanózových koster, jsou vodíkové můstky zodpovědné za stabilizaci struktury celé dvoušroubovice DNA. Vodíkové můstky mají charakter slabých nevazebných interakcí. Fosfodiesterové vazby jsou již kovalentní. Další stabilizace DNA dvoušroubovice je zajištěna hydrofobními interakcemi a  $\pi$ - $\pi^*$  interakcemi při sdílení elektronů u heterocyklických částí nukleotidu.

## ***Vlastnosti DNA***

Jednou ze základních vlastností DNA je její záporný náboj, což zajišťuje  $\text{PO}_4^{3-}$  skupina, která je zodpovědná také za její polaritu a velmi dobrou rozpustnost ve vodě. Častěji se však DNA rozpouští v TE pufru, což je roztok Tris-HCl a EDTA v poměru 10:1. Při zvyšování teploty dochází k tepelné denaturaci, tedy rozpletení dvoušroubovice a vzniku dvou samostatných lineárních vláken. Na rozdíl od proteinů je DNA schopna opětovného zapletení obou vláken – úplné renaturace. Denuraci DNA charakterizuje denurační křivka sigmoidního tvaru. V jejím inflexním bodě, který je zároveň nazýván bodem tání  $T_m$ , je právě půlka řetězce zdenaturovaná. Hodnota  $T_m$  závisí na počtu C+G párů.

Při vinutí obou vláken [22] do pravotočivé dvoušroubovice vzniká velký a malý žlábek. Rozdíl v jejich velikosti je způsoben rozdílnými bázemi, které je tvoří. Velikost velkého žlábků je 34 Å a malého 3,4 Å.

Při detekci a barvení se nejčastěji využívá ethidium bromid. Toto interkalační činidlo má schopnost vmezeřit se mezi báze DNA. Při následném osvětlení UV-lampou DNA vyzařuje elektromagnetické záření. Ethidium bromid se proto využívá jako detekující sonda například v elektroforetických metodách, či PCR. Při práci s tímto barvivem je nutno dbát zvýšené opatrnosti, protože ethidium bromidu je silný mutagen, teratogen a karcinogen.

Optické vlastnosti DNA jsou do značné míry ovlivněny aromatickou povahou heterocyklickýchází. Vzhledem ke konjugovanému systému dvojných vazeb, je DNA schopna absorbovat záření v UV-VIS oblasti. Nejintenzivněji absorbuje DNA při vlnové délce  $\lambda_{\text{max}} = 260 \text{ nm}$ , na rozdíl od proteinů, které mají obvyklé své absorpční maximum kolem 280 nm. Z poměru absorbancí při těchto vlnových délkách  $A_{260/280}$  lze, mimo jiné, určit čistotu DNA. V případě, že je výsledná hodnota tohoto poměru rovná 1,8, jedná se o čistou DNA. Hodnoty pod 1,8 naznačují znečištění proteiny. Je-li tento poměr větší než 1,8 dochází ke znečištění RNA.

## 5 METODY PŘÍPRAVY A URČENÍ VLASTNOSTÍ TENKÝCH VRSTEV

### 5.1 Metoda rotačního nanášení

Vzorky biomateriálů byly nanášeny na substrát z křemenných skel metodou rotačního nanášení. Čisté křemenné sklo bylo vystaveno ultrazvuku a následně byly jeho povrchové vlastnosti pozměněny syntetickým detergentem – tenzidem. Tento krok se provádí za účelem snížení povrchového napětí substrátu. Křemenné sklo upravené výše uvedeným způsobem bylo již připraveno k nanesení vzorku, čili aktivní vrstvy. Substrát se opatrně přenesl na rotační disk spin-coateru. Poté bylo k disku přivedeno vakuum pomocí vakuové pumpy, což zajistilo přichytnutí upraveného substrátu k disku. Statickou metodou bylo na substrát převedeno definované množství vzorku (obvykle 20  $\mu$ l). Otáčky se nastavily na 2 000 rpm a doba přípravy tenké vrstvy na 20 s. Na Obr. 9 je zobrazen spin-coater KW-4A firmy Chemat technology.



Obr. 9 Spin-coater Chemat technology KW-4A používaný v této práci

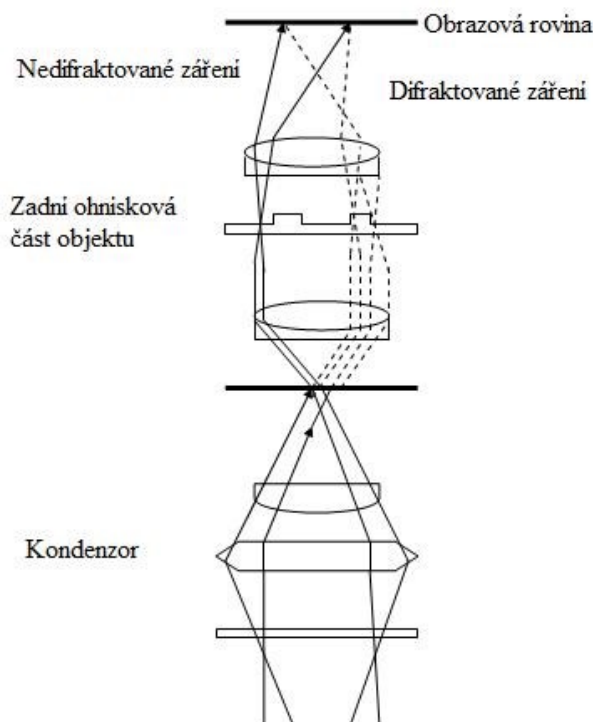
### 5.2 Optická mikroskopie

Po vytvoření tenké vrstvy na spin-coateru, následovala její vizuální kontrola optickým mikroskopem. K práci byl využíván mikroskop Nikon 2 000 Eclipse s fotoaparátem a softwarem CameraControl, který je na Obr. 10.



*Obr. 10 Optický mikroskop Nikon 2 000 Eclipse*

Kromě využití mikroskopu ke kontrole homogenity vrstvy byl také využíván k pořízení fotografií. Vzorek byl umístěn na pozorovací místo mikroskopu. Zdroj elektromagnetického záření se nacházel pod preparátem, odkud byl vzorek prosvěcován. Intenzitu světla lze nastavit pomocí kondenzoru. Po prosvětlení vzorku se zobrazí jeho odraz v objektivu pomocí soustavy čoček. Okulárem je možno tento obraz pozorovat. Objektiv a okulár jsou základní optické části mikroskopu. Obecné schéma a uspořádání optického mikroskopu je zobrazeno na Obr. 11.



Obr. 11 Schéma optického mikroskopu

Většina optických mikroskopů má možnost nastavení velikosti zvětšení. Téměř všechny pořízené fotografie v práci byly zhotoveny při čtyřnásobném a při dvacetinásobném zvětšení. Mezi mechanické části mikroskopu řadíme například stativ a všechny zaostřovací prvky, kterými lze jakýmkoli způsobem obraz měnit.

### 5.3 UV-VIS spektrofotometrie

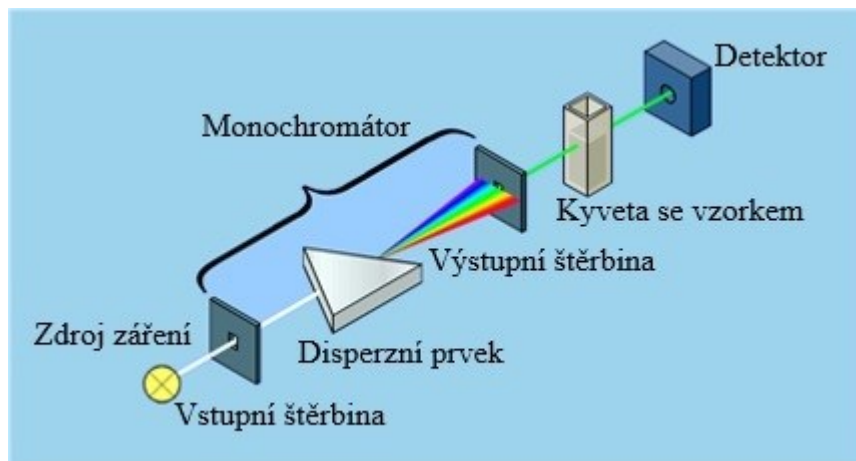
Spektrofotometrie je spektrální optická metoda. Jedná se o jednu z nejběžnějších metod využívaných na vědeckém poli. Měří se míra úbytku záření po projití vzorkem. Podmínkou je, aby vzorek obsahoval chromofor, tedy skupinu schopnou toto elektromagnetické záření určitých vlnových délek částečně (resp. úplně) absorbovat. Jako zdroj záření jsou v současné době nejčastěji používány optické lasery. Podle toho jaké vlnové délky jsou u laseru vybrány, rozdělujeme spektrofotometrii na IČ, UV-VIS a následně pak až na rentgenovou.

#### 5.3.1 Princip UV-VIS spektrofotometrie

Základním principem UV-VIS spektrofotometrie [23] je absorpce elektromagnetického záření vzorkem. Při absorpci záření dochází ke změně energetických stavů molekuly. Tato absorpce je způsobená valenčním elektronem, který má schopnost excitace. Právě při excitaci tohoto elektronu dochází k absorpci energie, která je nesena fotonem z elektromagnetického záření zdroje (laseru). Měří se změna vlnových délek před a po projití světla vzorkem.

### 5.3.2 Uspořádání UV-VIS spektrofotometru

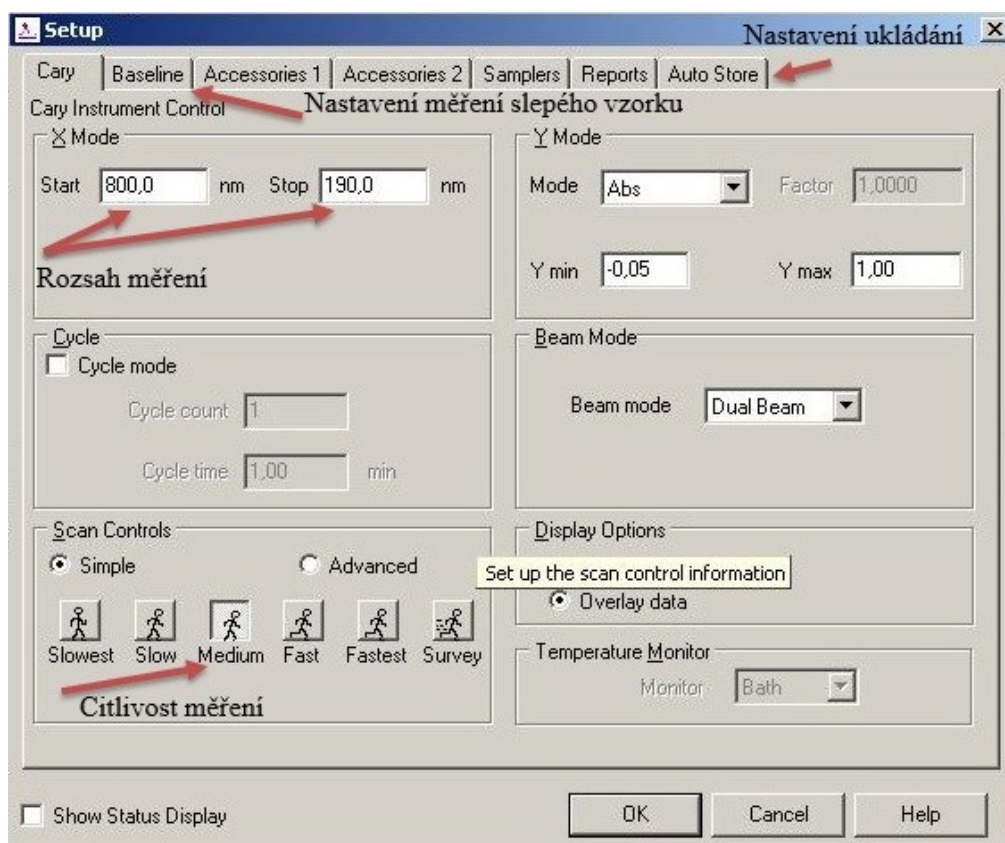
Světlo uvnitř spektrofotometru je emitováno zdrojem tzn. laserem či výbojkou. Další nezbytnou součástí tohoto přístroje je monochromátor, tedy prvek, který je schopen opticky vyfiltrovat požadovanou vlnovou délku. Monochromatické světlo je již vhodné k ozáření vzorku, který část tohoto záření absorbuje. Následně se prošlé záření detekuje na fotodiodách či diodových polích a vyhodnocuje se softwarově v počítači. Obecné schéma instrumentace UV-VIS spektrofotometru je na Obr. 12.



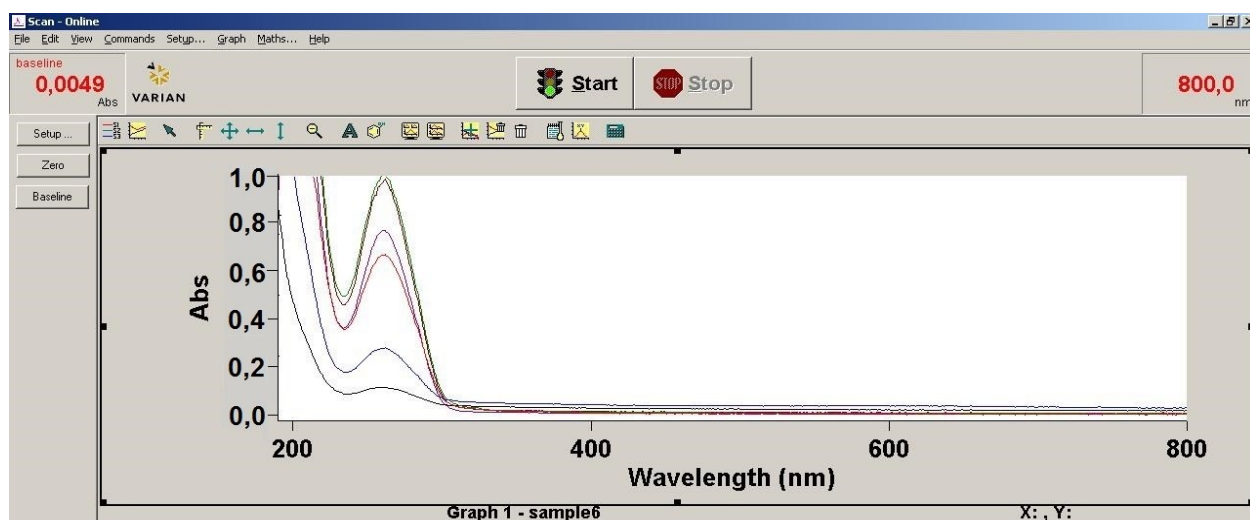
Obr. 12 Obecné uspořádání spektrofotometru s kyvetou [24]

V práci byl využíván spektrofotometr Varion Cary 50 Probe, jehož výhodou je možnost nastavení měřící cely nejen pro křemenná skla (pro měření na tenkých vrstvách), ale i pro kyvety. Softwarové nastavení spektrofotometru umožňuje rovněž předvolit rozpětí pro měření a vybrat tak pouze ty vlnové délky, které jsou vyžadovány, což je patrné z Obr. 13. Při nastavení menšího rozpětí měření je vhodné také nastavit citlivější krok. Příklad naměřených UV-VIS spekter je uveden na Obr. 14.





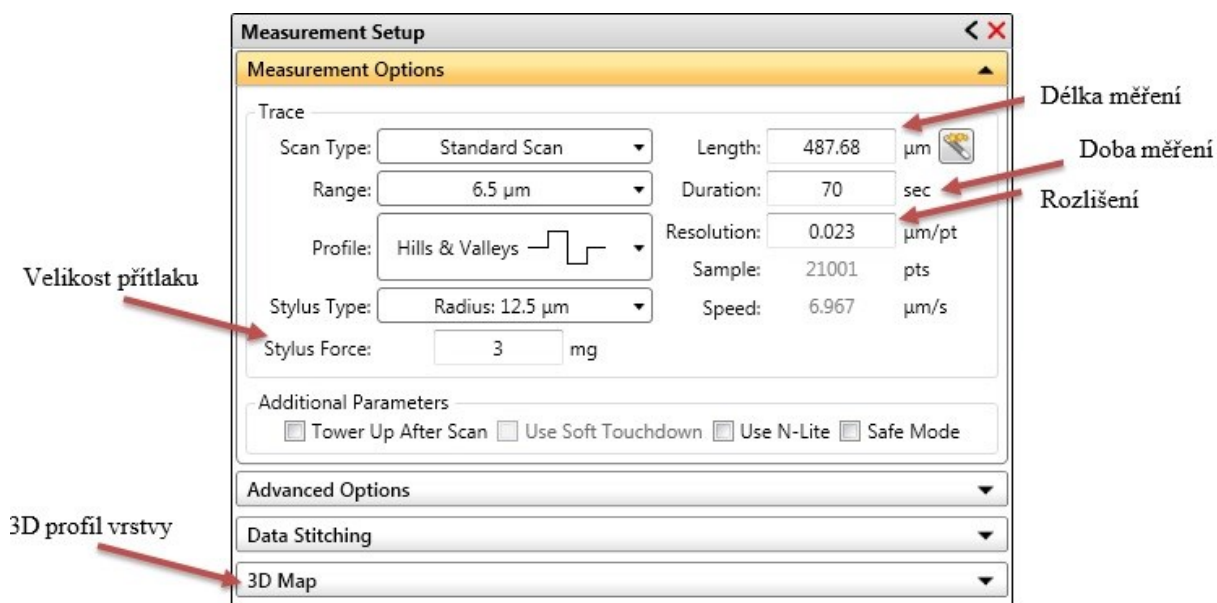
Obr. 13 Nastavení měření UV-VIS spekter na spektrofotometru Varion Cary 50 Probe



Obr. 14 UV-VIS spektrum DNA, vyhodnoceno spektrofotometrem Varion Cary 50 Probe

## 5.4 Profilometrie

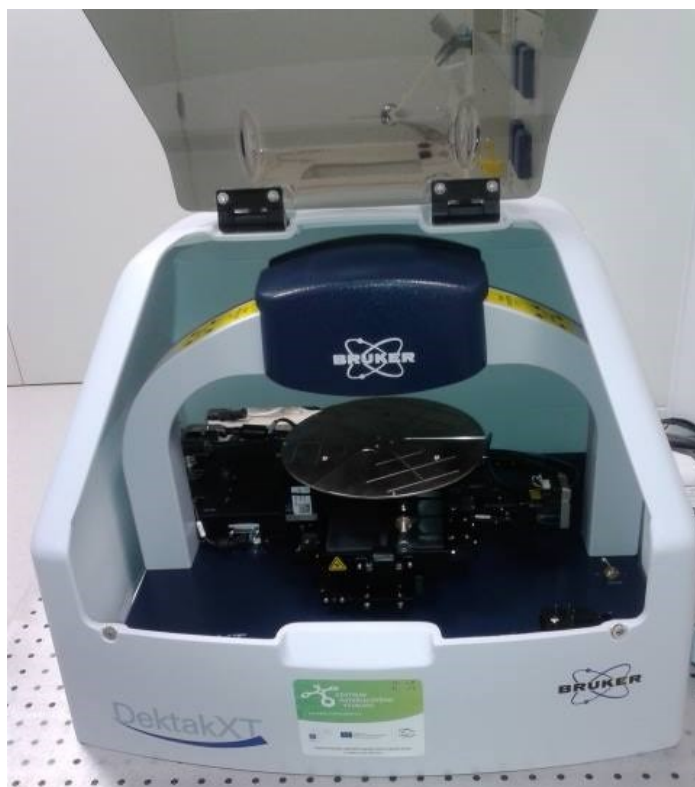
Tato metoda je jednou z množných metod při zjišťování morfologie povrchu a tloušťky tenké vrstvy. Jejími alternativními metodami jsou například optická mikroskopie, elektronová mikroskopie, či spektroskopická elipsometrie. Výhodou mechanického profilometru je jeho široká škála atributů, kterými lze ovlivnit samotné měření. Nejdůležitějším prvkem nastavení je přítlak hrotu na substrát se vzorkem. Základní nastavení mechanického profilometru vidíme na Obr. 15.



Obr. 15 Nastavení mechanického profilometru Bruker DektakXT

Při nedostatečně velkém přítlaku (většinou u tvrdých vzorků) nám profilometr poskytne nevěrohodnou informaci o tloušťce, či 3D profilu vrstvy. V opačném případě může hrot nanesený vzorek i poškodit. U velmi měkkých materiálů může dojít k hnutí nanesení vrstvy hrotem. Proto je vhodné nastavovat velikost síly přítlaku před každou změnou vzorku. Obvykle volíme hodnotu přítlaku kolem (3 – 5) mg, u velmi měkkých vrstev i menší než 1 mg. Dalším nastavitelným aspektem měření je délka měřeného úseku nebo doba, za kterou má danou délku profilometr změřit. Nastavíme-li před měřením délku měřeného úseku ve směrech na sebe kolmých (osa  $x$  a  $y$ ), profilometr přiřadí všem bodům z vymezeného čtverce informaci o tloušťce vrstvy, tedy osu  $z$ , a tím získáme 3D profil daného úseku vzorku.

Velikosti přítlaku pro měření v této práci byly voleny na 3 mg a měření proběhlo na profilometru firmy Bruker DektakXT, který je pozorovat na Obr. 16.



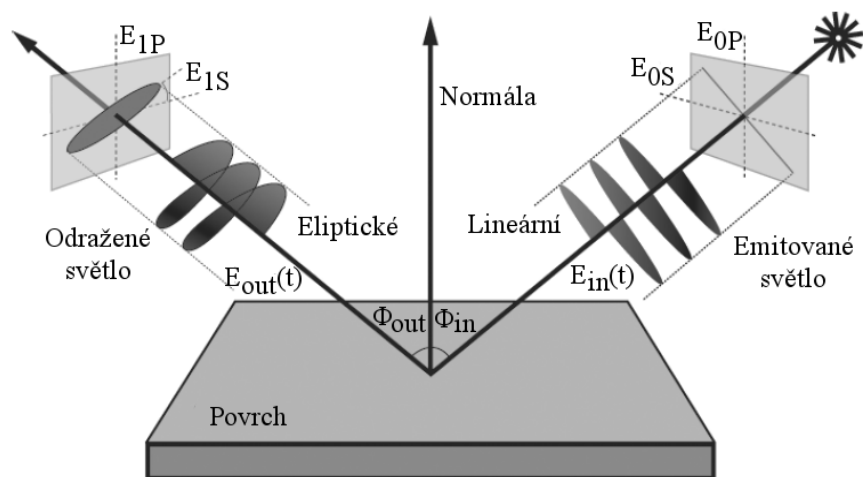
Obr. 16 Mechanický profilometr Brukner DektakXT

## 5.5 Spektroskopická elipsometrie

Spektroskopická elipsometrie je nedestruktivní optická spektrální metoda [25], která umožňuje studium optických vlastností tenkých vrstev. Měří se změna polarizovaného světla po dopadu na vzorek pod určitým úhlem a následném odrazu dopadajícího záření, toto uspořádání je možno vidět na Obr. 17. Spektroskopickou elipsometrií se stanovují elipsometrické úhly  $\Delta$  a  $\psi$ , které jsou představovány poměrem amplitudy  $\psi$  a rozdílů fáze světelných vln  $\Delta$  mezi p- a s- polarizovaným světlem. Elipsometrické úhly jsou charakterizovány základní rovnicí spektroskopické elipsometrie

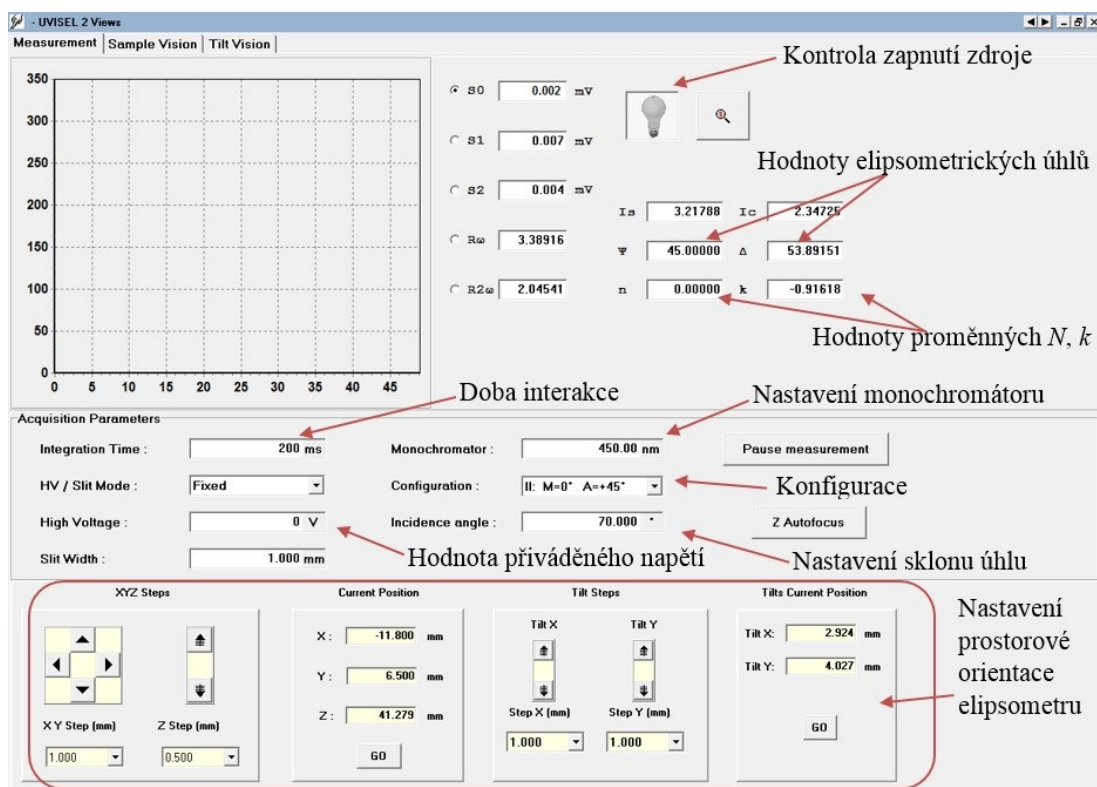
$$\rho = \frac{r_p}{r_s} = \tan \Psi e^{i\Delta}, \quad (9)$$

kde  $\rho$  je komplexní odrazivost,  $r_p$  je světlo rovnoběžné s rovinou dopadu a  $r_s$  je světlo kolmé na rovinu dopadu. Z těchto parametrů lze stanovit například komplexní indexu lomu  $N$ , index lomu  $n$ , index absorpce  $\kappa$  nebo tloušťku nanesené vrstvy  $l$  pro daný materiál.



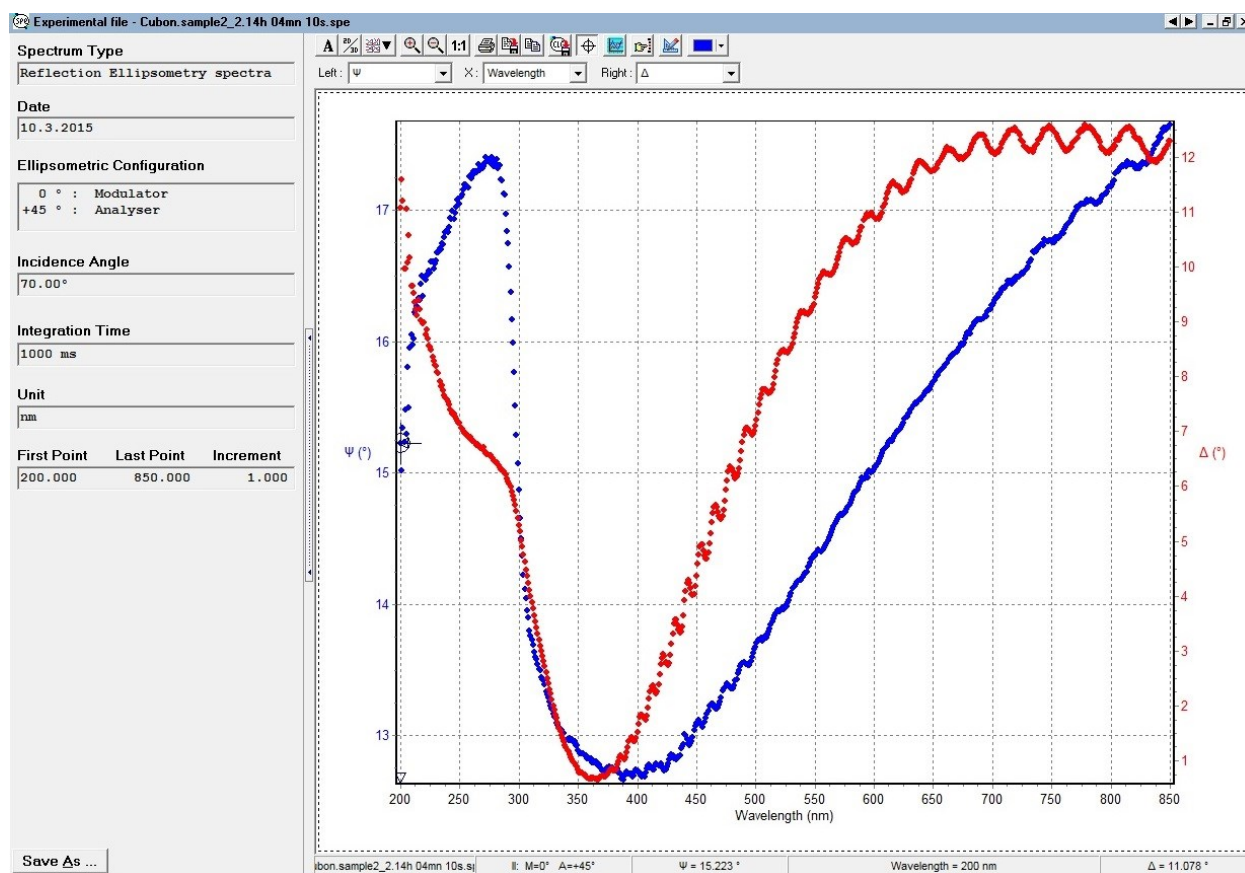
Obr. 17 Schématické zobrazení dopadajícího a odraženého záření ve spektroskopické elipsometrii [25]

V experimentální části této práce byl využit elipsometr UVISEL 2 značky HORIBA Scientific's. Při nastavování parametrů pro měření bylo nutno, stejně jako u mechanické profilometrie, volit vhodná rozpětí veličin, které mohou značně ovlivnit samotné měření. Z nastavitelných parametrů se nejčastěji upravují hodnoty přiváděného napětí a vlnové délky monochromátoru, dále sklon (resp. úhel), pod kterým má elektromagnetické záření dopadat na povrch vzorku. Ukázky parametrů nastavení elipsometru UVISEL 2 před zahájením měřením popisuje Obr. 18.



Obr. 18 Nastavení měření elipsometru UVISEL 2

Měření optických vlastností DNA pomocí spektroskopické elipsometrie nebylo věrohodné. Sušené tenké vrstvy DNA nebyly dostatečně homogenní natolik, aby na nich mohly být vyhodnoceny prokazatelné výsledky. Nehomogenita připravených vzorků vedla ke značné interferenci elektromagnetického záření, zejména v oblasti (400 – 850) nm. Z tohoto důvodu nebylo možné stanovit přesně optické vlastnosti nanesených tenkých vrstev DNA. Příklad získané závislosti elipsometrických úhlů  $\psi$  a  $\Delta$  na vlnové délce DNA je možno spatřit na Obr. 19. Tento obrázek však popisuje pouze surová naměřená data, která je nutno následně vyhodnotit tak, aby poskytovala informace o optických vlastnostech tenkých vrstev.



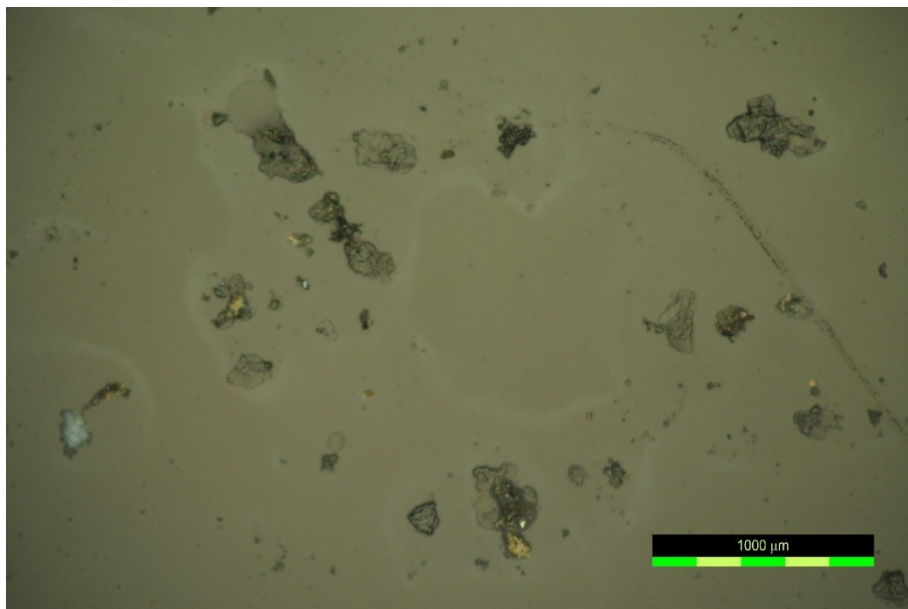
Obr. 19 Závislost elipsometrických úhlů  $\psi$  a  $\Delta$  na vlnové délce DNA o koncentraci  $c = 1 \text{ mg/ml}$



## 6 DISKUZE EXPERIMENTÁLNÍCH VÝSLEDKŮ

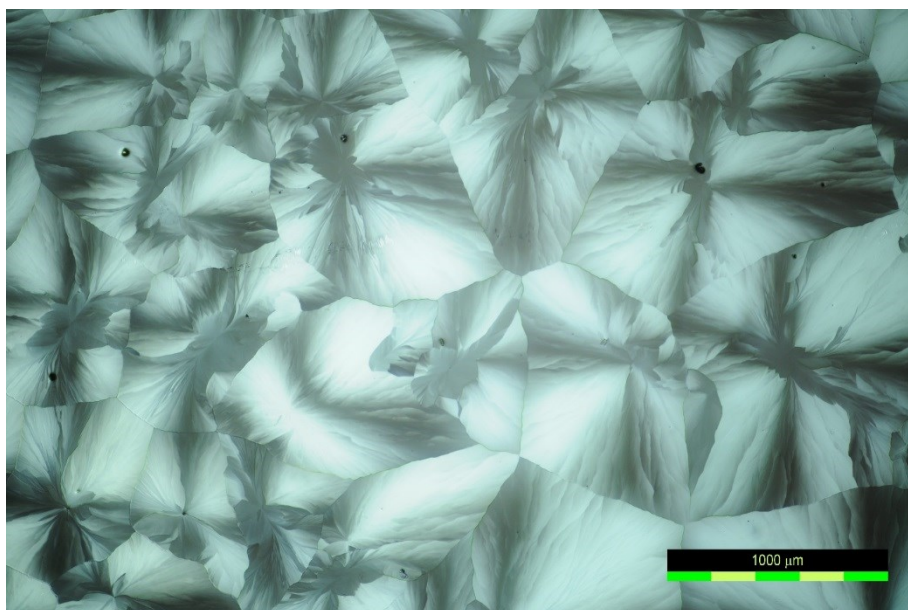
### 6.1 DNA

Vzorky DNA byly připraveny metodou rotačního nanášení při otáčkách 2 000 rpm po dobu 20 s. Po nanesení na předem upravený substrát se vzorek vizuálně kontroloval pod optickým mikroskopem. Takto připravenou tenkou vrstvu DNA lze pozorovat na Obr. 20.



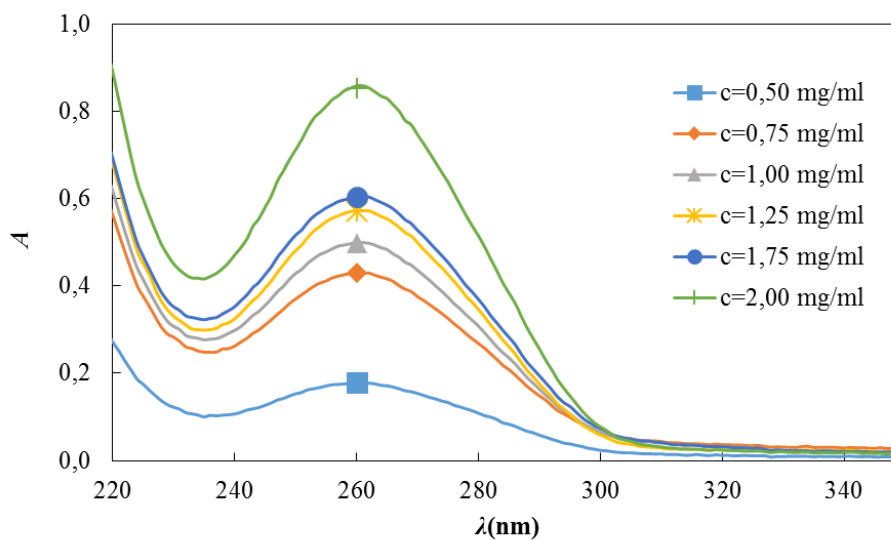
*Obr. 20 Tenká vrstva DNA o koncentraci  $c = 0,5 \text{ mg/ml}$  a objemu  $20 \text{ μl}$  připravená metodou rotačního nanášení při čtyřnásobném zvětšení ( $4\times$ )*

Vzorky, které byly připravovány za těchto podmínek měly však velmi tenké vrstvy a měření jejich absorpčních spekter nebylo možné. Z tohoto důvodu byla zvolena příprava tenkých vrstev sušením definovaného množství DNA na substrátu. Vzhledem k tomu, že při procesu sušení resp. odpařování rozpouštědla (TE-pufu) na vzorek se substrátem nepůsobily odstředivé síly vyskytující se u rotačního nanášení, na substrátu zůstalo větší množství vzorku, a tudíž vznikly silnější vrstvy DNA. Připravené vzorky na substrátu pravděpodobně vykrytalizovaly. Tenkou vrstvu připravenou sušením  $20 \text{ μl}$  DNA lze vidět na Obr. 21.



Obr. 21 Tenká vrstva DNA o koncentraci  $c = 0,5 \text{ mg/ml}$  a objemu  $20 \mu\text{l}$  připravená sušením při čtyřnásobném zvětšení ( $4\times$ )

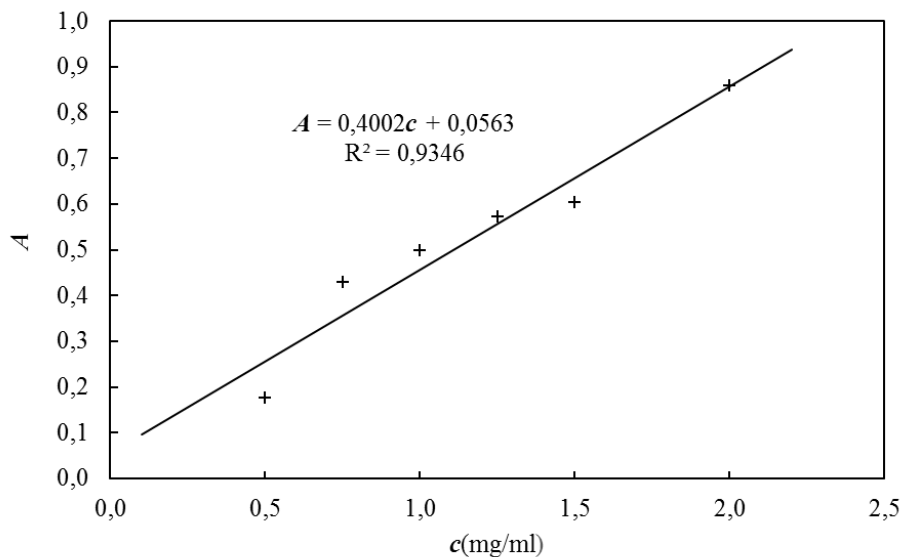
Větší tloušťka takto připravených vzorků zvýšila optickou dráhu paprsku používaného v UV-VIS spektrofotometru, a tak i míru absorpce. Absorpční spektra DNA o různých koncentracích jsou na Obr. 22. Kalibrační přímku koncentrační řady DNA pak představuje Obr. 23.



Obr. 22 Grafické znázornění absorpčních spekter tenkých vrstev DNA připravené sušením o různých koncentracích

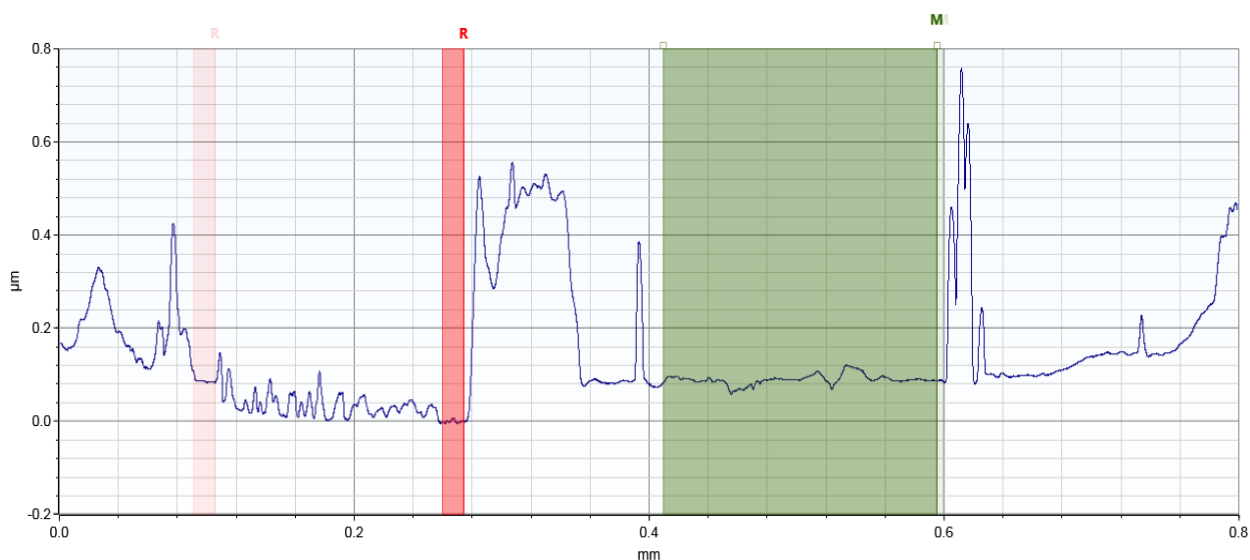
Absorpční maximum při  $\lambda_{\text{max}} = 260 \text{ nm}$  je charakteristická vlnová délka pro aromatické dusíkaté báze v nukleotidu molekul DNA. S rostoucí koncentrací rostla i hodnota absorpce dle Lambert-Beerova zákona viz rovnice (7). Při vyšších koncentracích se nachází v tenké vrstvě větší počet chromoforů, tudíž i hodnota absorpce roste. Jelikož se hodnoty absorpce

pro všechny tenké vrstvy DNA pohybovaly v rozmezí 0 – 1, bylo možné z nich vytvořit kalibrační řadu při  $\lambda_{\max}$ , viz Obr. 23. Rovnice této kalibrační přímky byla získána metodou nejmenší čtverců. Její hodnota je  $A = 0,4002c + 0,0563$ .



Obr. 23 Grafické znázornění proložení absorpčních maxim píků DNA při  $\lambda_{\max} = 260 \text{ nm}$  – kalibrační přímka DNA

Profilometrem byla stanovena tloušťka vrstvy v daném měřeném úseku na 90 nm, profil nanesené tenké vrstvy je možno spatřit na Obr. 24.



Obr. 24 Profil a tloušťka vrstvy DNA naneseného při 2 000 rpm

Tenké vrstvy připravované rotačním nanášením i sušením se výrazně nelišily v strukturách morfologie povrchu. Obě dvě metody poskytovaly velmi nehomogenní vrstvy, a proto nebylo možné získat přenou informaci o jejich tloušťce. Všechny vzorky se pohybovaly v rozmezí (70 –

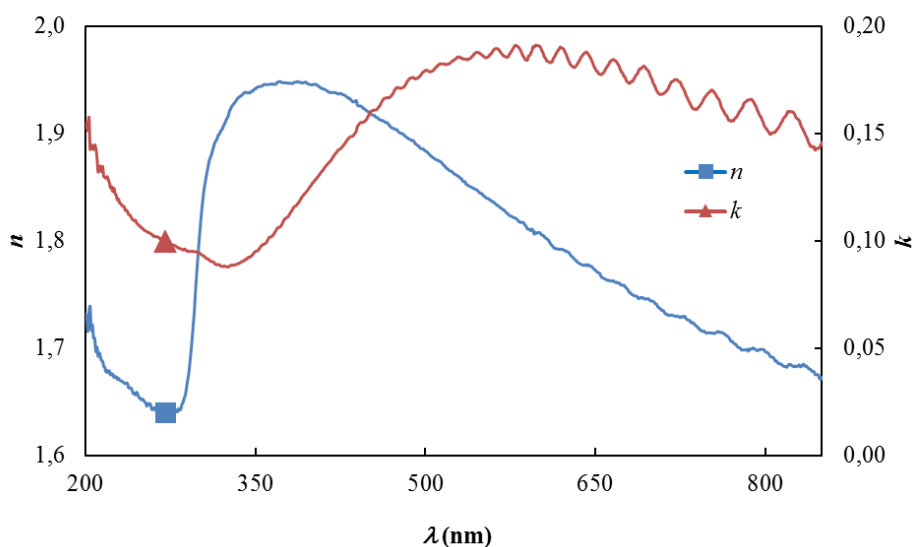


150) nm, viz Tabulka 1. S rostoucí koncentrací vzorků nebyly pozorovány výraznější rozdíly v tloušťkách vrstev.

*Tabulka 1: Porovnání naměřených hodnot tloušťek tenkých vrstev DNA s jejich koncentracemi, měřeno mechanickým profilometrem*

$c$ (mg/ml)	0,5	0,75	1,0	1,25	1,75	2,0
$l$ (nm)	$90 \pm 15$	$115 \pm 30$	$95 \pm 10$	$130 \pm 10$	$100 \pm 30$	$125 \pm 15$

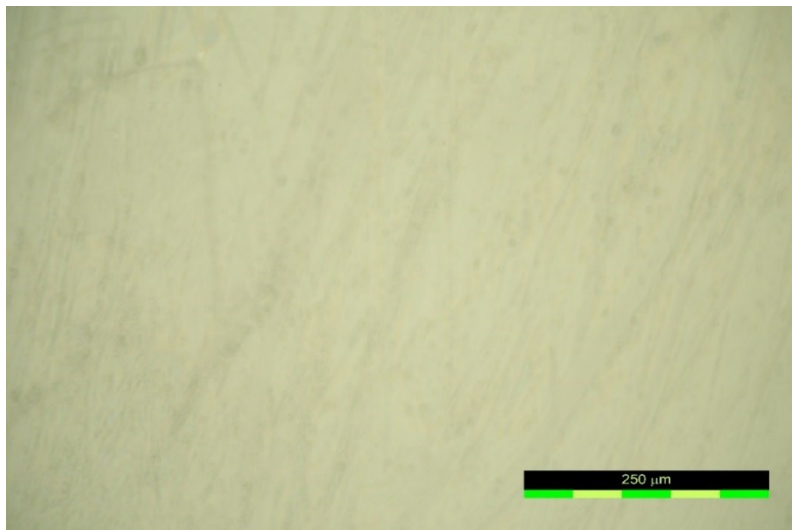
Spektroskopickou elipsometrií byly získány závislosti elipsometrických úhlů  $\psi$  a  $\Delta$  na vlnové délce. Příklad takové závislosti se nachází na Obr. 19. Převodění těchto úhlů na index lomu  $n$  a index absorpce  $k$  popisuje částečně Obr. 25. Při zkoumání křivky indexu lomu  $n$  lze zřetelně vidět absorpční hranu přibližně při  $\lambda = 260$  nm. Tato změna indexu lomu může částečně informovat o tom, že se jedná právě o tenkou vrstvu DNA, pro kterou je tato vlnová délka charakteristická.



*Obr. 25 Grafické znázornění průběhu indexu lomu a indexu absorpce na vlnové délce DNA o koncentraci 1 mg/ml*

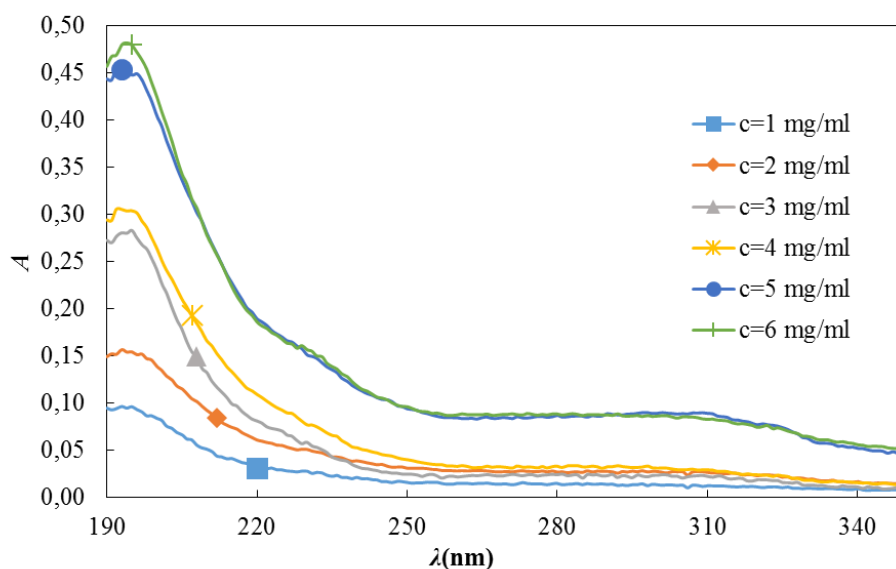
## 6.2 BSA

Vzorky BSA byly nanášeny metodou rotačního nanášení při 2 000 rpm po dobu 20 s. Aplikovaný objem roztoku činil 20  $\mu\text{l}$ . Optickým mikroskopem u všech vzorků proběhla vizuální kontrola nanesené vrstvy. Ukázka nanesené vrstvy vzorku viz Obr. 26.



Obr. 26 Tenká vrstva BSA o koncentraci  $c = 5 \text{ mg/ml}$  a objemu 20  $\mu\text{l}$  připravená při 2 000 rpm po dobu 20 s při dvacetinásobném zvětšení ( $20\times$ )

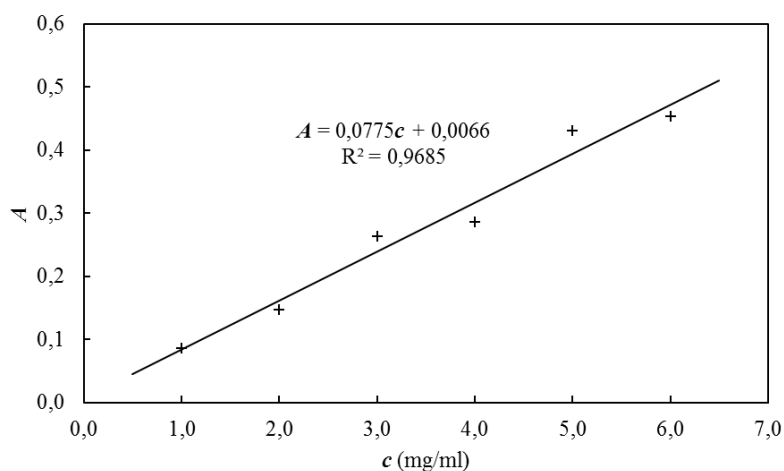
Absorpční spektra připravených tenkých vrstev BSA o různých koncentracích při 2 000 rpm po dobu 20 s jsou na Obr. 27.



Obr. 27 Grafické znázornění absorpčních spekter tenkých vrstev BSA o různých koncentracích

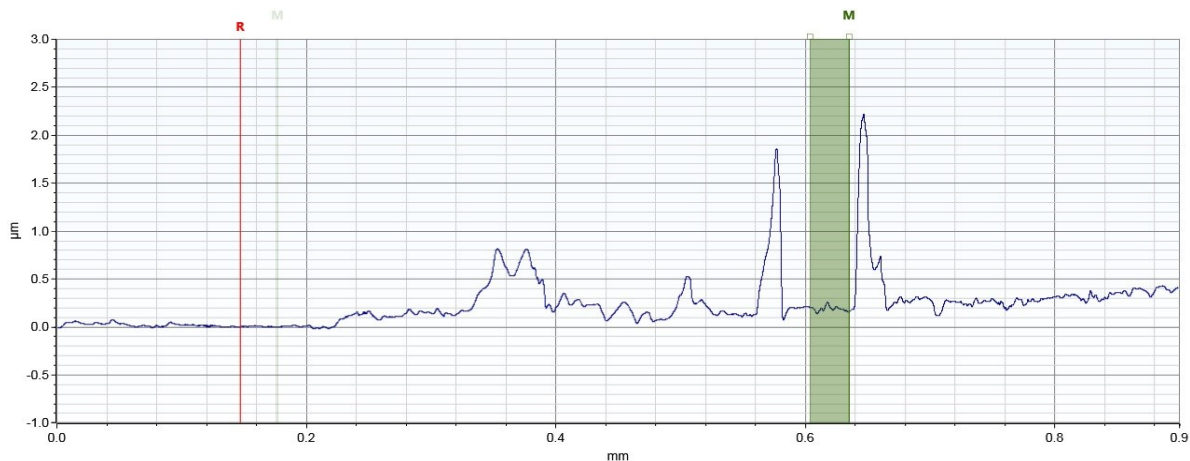
Průběh absorpčních spekter BSA má analogický trend. Opět se zde uplatňuje závislost Lambert-Beerova zákona, tedy s rostoucí koncentrací roste i hodnota absorbance. Malý absorpční pík se

nachází také při  $\lambda = 320$  nm. Absorpční maxima při  $\lambda_{\max} = 198$  nm v závislosti na koncentraci jsou zobrazena na Obr. 28.



Obr. 28 Grafické znázornění proložení absorpčních maxim píků BSA při  $\lambda_{\max} = 198$  nm – kalibrační přímka BSA

Tloušťky nanosených tenkých vrstev BSA byly, stejně jako DNA, měřeny mechanickou profilometrií. Opět se zde vyskytl problém v podobě jejich nehomogenity. Připravené tenké vrstvy BSA byly, dle očekávání, tenčí než v případě DNA. Tloušťky všech vzorů se nacházely v rozpětí (20 – 90) nm. Morfologii tenké vrstvy BSA o koncentraci  $c = 2$  mg/ml lze pozorovat na Obr. 29, přehled všech tlouštěk BSA je možno popisuje Tabulka 2.



Obr. 29 Příklad morfologie povrchu tenké vrstvy BSA o koncentraci  $c = 2$  mg/ml

Tabulka 2: Porovnání naměřených hodnot tlouštěk tenkých vrstev BSA s jejich koncentracemi, měřeno mechanickým profilometrem

$c$ (mg/ml)	1	2	3	4	5	6
$l$ (nm)	$55 \pm 20$	$70 \pm 5$	$60 \pm 30$	$40 \pm 15$	$55 \pm 10$	$70 \pm 15$

## 7 ZÁVĚR

Práce byla zaměřena na studium optických vlastností biomateriálů, které by mohly najít potenciální využití v polovodičové technice. V teoretické části bakalářské práce byly popsány základní vlastnosti veličin nutných k pochopení problematiky spjaté se studiem optických vlastností tenkých vrstev.

Experimentální část práce byla již zaměřena na vybrané biomateriály, ze kterých byly připravovány tenké vrstvy. Studium bylo zaměřeno na vzorky DNA a BSA. Z širokého spektra způsobů příprav tenkých vrstev byly optimalizovány metody rotačního nanášení a odpařování rozpouštědla – sušení. Bylo zjištěno, že právě tyto dvě metody příprav vedly k tvorbě takových tenkých vrstev, na kterých bylo možné uskutečnit měření optických vlastností. Zároveň tyto metody nemají, na rozdíl od jiných výše uvedených metod, tak extrémní podmínky příprav, které by mohly vzorky nevratně poškodit. Připravené tenké vrstvy byly zkoumány optickou mikroskopií a následně byly pořízeny vizuální záznamy nanesených vzorků, a to vše za účelem kontroly homogenity vrstev. UV-VIS spektrofotometrií byla získána absorpční spektra obou studovaných biomateriálů ve všech vybraných koncentracích. Připravené tenké vrstvy DNA měly absorpční maximum při vlnové délce  $\lambda = 260$  nm, což potvrdilo předpoklady již z teoretické části práce, a zároveň tento fakt byl v souladu s použitou literaturou. Dusíkaté báze přítomné ve struktuře DNA absorbují, díky přítomnosti konjugovaného systému dvojných a jednoduchých vazeb, právě při této vlnové délce. U absorpčních spekter byl pozorován zjevný nárůst absorbance s rostoucí koncentrací, což je v souladu s Lambert-Beerovým zákonem. Míra absorbance BSA nabývala postupně rostoucího trendu, a tak i zde byla pozorována přímá úměra mezi absorbancí a koncentrací. Při bližším pohledu na velikosti absorbancí obou vzorků bylo možno sledovat nižší míru absorbance u tenkých vrstev BSA. Rozdílnosti těchto hodnot byly pravděpodobně způsobeny přípravou tenkých vrstev jednotlivých biomateriálů, s čímž souvisely i rozdílné tloušťky vrstev u obou vzorků. Z absorpčních maxim obou studovaných biomateriálů byly vytvořeny jejich kalibrační přímky. Tloušťky nanesených vrstev byly naměřeny metodou mechanické profilometrie. I přes značnou snahu nebylo možné touto metodou zjistit konkrétní tloušťku nanesených vrstev, protože morfologie povrchu vrstev byla značně nehomogenní. Byla však stanovena rozmezí tlouštěk vzorků pro každou zvolenou koncentraci obou studovaných biomateriálů. Sušené vzorky DNA tvořily v průměru silnější tenké vrstvy než vzorky BSA, a to z důvodu absence odstředivé síly, která se vyskytuje pouze u metody rotačního nanášení. Měření tlouštěk spektroskopickou elipsometrií nebylo dostatečně průkazné. Značná přítomnost

interference zapříčinila nemožnost objektivního stanovení optických vlastností nanesených vrstev.

## 8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Biomateriály na bázi polymerů. *Ústav inženýrství pevných látek* [online]. 2012 [cit. 2015-03-25]. Dostupné z: [http://old.vscht.cz/ipl/ipl/osobni/svorcik/skripta/tyden\\_13.pdf](http://old.vscht.cz/ipl/ipl/osobni/svorcik/skripta/tyden_13.pdf)
- [2] Tenké vrstvy [online]. [citace 2014\_04\_09]. Dostupné z: [http://www.ateam.zcu.cz/tenke\\_vrstvy\\_sma.pdf](http://www.ateam.zcu.cz/tenke_vrstvy_sma.pdf)
- [3] KŘEPELKA, Jindřich. *Optika tenkých vrstev: Určeno pro posluchače 4. ročníku přírodovědecké fakulty University Palackého*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 1993. ISBN 80-706-7319-2.
- [4] Naprašování tenkých vrstev [online]. [citace 2014\_04\_09]. Dostupné z: [http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id\\_document=25484](http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=25484)
- [5] Metody depozice povlaků - CVD. *Ústav fyziky* [online]. 2012 [cit. 2015-03-25]. Dostupné z: [http://fyzika.fs.cvut.cz/subjects/fzmt/lectures/FZMT\\_7.pdf](http://fyzika.fs.cvut.cz/subjects/fzmt/lectures/FZMT_7.pdf)
- [6] *Polygrafické minimum*. 2. uprav. dopl. vyd. Bratislava: TypoSet, 2000, 262 s. ISBN 8096781138.
- [7] Spin-coating. *Fyzika Upol* [online]. 2014 [cit. 2014-12-21]. Dostupné z: <http://fyzika.upol.cz/cs/system/files/download/vujtek/semCVN/2011/SpinCoating.pdf>
- [8] SÖNMEZOĞLU, Savaş a Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU. Optical and dielectric properties of double helix DNA thin films. *Materials Science and Engineering: C*. Překlad John Bester. 2011, vol. 31, issue 8, s. 1619-1624. DOI: 10.1016/j.msec.2011.08.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493111002098>
- [9] Lom a odraz. *Optika jednoduše* [online]. 2006 [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: <http://optika.kuratkoo.net/odraz.htm>
- [10] Příměsový polovodič. *Elektřina a magnetismus* [online]. 2004 [cit. 2015-03-25]. Dostupné z: [http://elektross.gjn.cz/soucastky/jeden\\_prechod/primes\\_polovodic.html](http://elektross.gjn.cz/soucastky/jeden_prechod/primes_polovodic.html)
- [11] HUNG, Yu-Chueh, Ting-Yu LIN, Wei-Ting HSU, Yi-Wen CHIU, Yu-Sheng WANG a Ljiljana FRUK. Functional DNA biopolymers and nanocomposite for optoelectronic applications. *Optical Materials*. 2012, vol. 34, issue 7, s. 1208-1213. DOI: 10.1016/j.optmat.2012.01.035. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925346712000419>

- [12] DERKOWSKA, B., O. KRUPKA, V. SMOKAL a B. SAHRAOUI. Optical properties of oxazalone derivatives with and without DNA–CTMA. *Optical Materials*. 2011, vol. 33, issue 9, s. 1429-1433. DOI: 10.1016/j.optmat.2011.02.037.
- [13] LEE, Jung Eun, Eui Doo DO, U. Ra LEE, Min Ju CHO, Kyung Hwan KIM, Jung-Il JIN, Dong Hee SHIN, Suk-Ho CHOI a Dong Hoon CHOI. Effect of binding mode on the photoluminescence of CTMA–DNA doped with (E)-2-(2-(4-(diethylamino)styryl)-4H-pyran-4-ylidene)malononitrile. *Polymer*. 2008, vol. 49, issue 25, s. 5417-5423. DOI: 10.1016/j.polymer.2008.10.003.
- [14] YANG, Chunhe, Aiwei TANG a Feng TENG. Electrochemistry of deoxyribonucleic acid–cetyltrimethylammonium complex with considering O<sub>2</sub> effect. *Thin Solid Films*. 2014, vol. 550, s. 630-634. DOI: 10.1016/j.tsf.2013.10.040.
- [15] KWON, Young-Wan, Dong HOON CHOI a Jung-Il JIN. Optical, electro-optic and optoelectronic properties of natural and chemically modified DNAs. *Polymer Journal*. 2012-10-17, vol. 44, issue 12, s. 1191-1208. DOI: 10.1038/pj.2012.165.
- [16] LENSU, Lasse, Jussi PARKKINEN, Sinikka PARKKINEN, Michael FRYDRYCH a Timo JAASKELAINEN. *Optical Materials*. 2003, vol. 21, issue 4, s. 783-788. DOI: 10.1016/S0925-3467(02)00099-X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092534670200099X>
- [17] HAMPP, N. A. Bacteriorhodopsin: mutating a biomaterial into an optoelectronic material. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2000, vol. 53, issue 6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s002539900311>.
- [18] QU, Xiaohu, Jinzhen LU, Chuan ZHAO, John F. BOAS, Boujemaa MOUBARAKI, Keith S. MURRAY, Amal SIRIWARDANA, Alan M. BOND a Lisandra L. MARTIN. (Pro<sup>2</sup>H)<sub>2</sub>(TCNQ.–)<sub>2</sub>·TCNQ: An Amino Acid Derived Semiconductor. *Angewandte Chemie International Edition*. 2011-02-11, vol. 50, issue 7, s. 1589-1592. DOI: 10.1002/anie.201005406. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201005406>
- [19] YU, Xiang, Hailong FAN, Yang LIU, Zujin SHI a Zhaoxia JIN. Characterization of Carbonized Polydopamine Nanoparticles Suggests Ordered Supramolecular Structure of Polydopamine. *Langmuir* [online]. 2014, vol. 30, issue 19, s. 5497-5505 [cit. 2014-11-27]. DOI: 10.1021/la500225v. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la500225v>
- [20] Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi. *Sekundární struktura* [online]. 2004 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/A/AJDOC.htm>

- [21] ALBERTS, Bruce. *Molecular Biology of the Cell*. 3rd Ed. New York: Garland Publishing, Inc., 1994, 1293 s. ISBN 08-153-1619-4.  
z: [http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/UV\\_Vis/Cary50.htm](http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/UV_Vis/Cary50.htm)
- [22] DNA from the Beginning: Watson and Crick: 3-D structure of DNA. *The DNA molecule is shaped like a twisted ladder*. [online]. © 2002 - 2011 [cit. 2015-03-01]. Dostupné z: <http://www.dnafb.org/19/animation.html>
- [23] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [24] UV-Vis Absorption Spectroscopy. *San Diego Miramar College* [online]. 2011 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: [http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/UV\\_Vis/Cary50.htm](http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/UV_Vis/Cary50.htm)
- [25] Spectroscopic Ellipsometry Solutions. *HORIBA - Explore the future* [online]. 1996-2015 [cit. 2015-03-19]. Dostupné z: [http://www.horiba.com/scientific/products/ellipsometers/?gclid=CjwKEAjlw25SoBRCMn7Gc97Knj0ISJAC7vaMrqEdl6KUWzOoMLm5gL1h1IsulhNilSFTATF7eiJ5hDxoCBwzw\\_wcB](http://www.horiba.com/scientific/products/ellipsometers/?gclid=CjwKEAjlw25SoBRCMn7Gc97Knj0ISJAC7vaMrqEdl6KUWzOoMLm5gL1h1IsulhNilSFTATF7eiJ5hDxoCBwzw_wcB)